INSTITUTO BOTÂNICO DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

BOLETIM
DA
SOCIEDADE BROTERIANA

(FUNDADO EM 1880 PELO DR. JÚLIO HENRIQUES)

VOL. XXV (2.ª SÉRIE)

REDACTOR
DR. A. FERNANDES
Director do Instituto Botânico



COIMBRA
1951

Composição e impressão das Oficinas
da Tip. Alcobacense, Lt. — Alcobaça

SOBRE A CARIOLOGIA DE *FRITILLARIA LUSITANICA* WICKSTR.

por

MAGDA BOTELHO *

Instituto Botânico da Universidade de Coimbra

Recebido para publicação em 8 de Janeiro de 1951.

INTRODUÇÃO

COUTINHO (1939) considera que, em Portugal, o género *Fritillaria* se encontra representado por uma única espécie, *F. lusitanica* Wickstr., com uma subespécie, *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout.. SAMPAIO (1947), porém, considera a existência de duas espécies: *F. lusitanica* Wickstr. e *F. stenophylla* Bss. et Reut.

A observação da morfologia externa de plantas colhidas em diferentes localidades mostrou-nos que os caracteres apontados por COUTINHO e SAMPAIO para a distinção das entidades taxonómicas por eles reconhecidas não são perfeitamente constantes, não oferecendo, por isso, segurança absoluta. As plantas apresentam variabilidade acentuada, até quando pertencem à mesma população.

No presente trabalho, levamos a efeito o estudo cariológico do tipo e da subespécie, com o objectivo de aplicar os dados cariológicos ao esclarecimento deste problema taxonómico.

Fazemos ainda o estudo da meiose da subespécie *stenopylla*, comparando o seu comportamento com o de outras espécies de *Fritillaria* já estudadas por vários autores, entre os quais FRANKEL (1937) e BENNETT (1938).

MATERIAL E TÉCNICA

O material em que realizámos as observações foi colhido em Meleças e Cova da Piedade, localidades situadas nos arredores de Lisboa.

* Bolseiro do Instituto para a Alta Cultura.

O estudo das placas metafásicas foi efectuado em cortes transversais de vértices vegetativos da raiz. Para obter as preparações, empregámos a fixação em Navachine (modificação de Bruun) e a coloração pelo violete de genciana.

Para a observação dos cromocentros, micronúcleos e pontes nas células somáticas, utilizámos igualmente os meristemas radiculares, em preparações obtidas pela técnica do N. Q. M. de Heitz (1936), com fixação prévia em álcool-acético (3:1).

A contagem do número máximo de nucléolos foi também feita nos vértices vegetativos da raiz, utilizando o método rápido de esfregaço com coloração nucleolar de Bhaduri (1941). O fixador foi o líquido de Levitsky (6:4).

O estudo da meiose foi efectuado em anteras fixadas em álcool-acético (3:1) e dissociadas em carmim-acético. Estas preparações foram tornadas permanentes pelo método de McClintock (1929).

OBSERVAÇÕES

Em todas as metafases das células dos meristemas radiculares de *F. lusitanica* Wickstr. e de *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. contámos 24 cromosomas.

O estudo permenorizado das placas metafásicas permitiu-nos distinguir os seguintes tipos cromosómicos (figs. 1*a*, *b*):

a) Um par quase isobraquial LL, encontrando-se a constrição primária situada submedianamente;

b) Um par heterobraquial Lm, com a constrição primária submediana, mas em que um dos braços é distintamente mais comprido que o outro;

c) Três pares heterobraquiais Lp, com a constrição primária subterminal; um dos cromosomas Lp apresenta, no braço L, uma constrição secundária muito nítida próximo do centrómero, mas destacando-se perfeitamente da constrição primária (fig. 1*b*); outros cromosomas mostram uma constrição secundária situada distalmente no braço p;

d) Seis pares cefalobraquiais L., com a constrição primária subterminal; alguns destes cromosomas apresentam ainda uma constrição secundária, situada subdistalmente.

e) Um par cefalobraquial l., com a constrição primária subterminal.

Tendo já efectuado o estudo cariológico de *F. lusitanica* Wickstr. (BOTELHO e MENDES, 1946) tínhamos encontrado o número somático 2n = 26. Procedemos à revisão do material e ao estudo de novos meristemas radiculares e concluímos ter

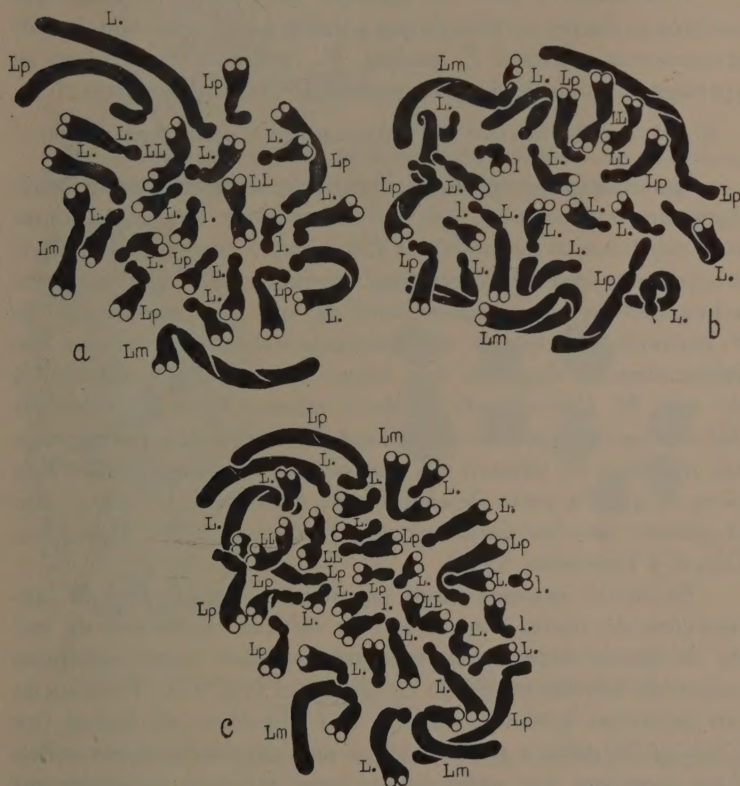


Fig. 1. — *a*, Placa equatorial em uma célula do meristema radicular de *F. lusitanica* Wickstr. *b*, Placa equatorial em uma célula do meristema radicular de *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. *c*, Placa equatorial em uma célula do meristema radicular de um indivíduo triploide ; os cromosomas estão indicados pelos respeetivos símbolos. × 2.550.

havido êrro nas contagens anteriores. O número diploide tanto do tipo como da subespécie é, na realidade, 2n = 24 cromosomas.

O idiograma de *F. lusitanica* Wickstr. e da subespécie *stenophylla* pode representar-se pela seguinte fórmula:

$$2n = 24 = 2\ LL + 2\ Lm + 6\ Lp + 12\ L. + 2\ l.$$

Analisando a lista de espécies de *Fritillaria* estudadas cariològicamente, verifica-se que a maior parte delas tem $2n=24$ cromosomas. Apenas *F. pudica*, *F. ruthenica* e *F. nigra* se apresentam como excepções, possuindo respectivamente:

$2n=26$, $2n=18$ e $2n=18+0-3f$ (Darlington e Janaki-Ammal, 1945)

Em muitas espécies de *Fritillaria*, têm-se descrito dois tipos de cromosomas: um correspondente aos cromosomas com centrómeros subterminais (S), e outro correspondente aos cromosomas com centrómeros submedianos (M). Pelo idiograma acima mencionado, pode-se verificar que os cromosomas de *F. lusitanica* Wickstr. e da subespécie *stenophylla* também são essencialmente daqueles dois tipos, havendo 20 do tipo *S* e 4 do tipo *M*. Deste modo, tanto o número como a morfologia dos cromosomas somáticos da espécie e subespécie portuguesas são idênticos ao número e à morfologia dos cromosomas somáticos de grande parte de espécies de *Fritillaria* em que se têm efectuado estudos cariológicos (Darlington, 1936; Fernandes, Garcia e Fernandes, 1948).

Enquanto examinávamos um número considerável de preparações de cortes transversais de vértices vegetativos da raiz de diferentes indivíduos, encontrámos uma cujas metafases somáticas apresentavam 36 cromosomas (fig. 1*c*). Trata-se de um indivíduo triploide, colhido nos arredores de Lisboa, na Cova da Piedade, e pertencente a uma população cujos indivíduos possuem na generalidade características morfológicas externas que estão de acordo com a subespécie de Coutinho.

O indivíduo triploide é uma planta de cerca de 1,2 dm., com o caule bastante folhoso. As folhas são linear-lanceoladas, alternas, verde-claras, não glaucas, com 4-10 mm. de largura. Infelizmente, como o exemplar não floresceu, não conseguimos examinar os caracteres da flor.

Vários autores têm verificado o aparecimento esporádico de indivíduos triploides em espécies normalmente diploides.

Entre estas estão apontadas as seguintes (Darlington e Janaki-Ammal, 1945):

F. camtschatcensis
F. dasyphylla
F. latifolia
F. lanceolata
F. recurva (coccinea)
F. pudica

No núcleos em repouso de indivíduos diploides pertencentes ao tipo e à subespécie observámos grande quantidade de cro-

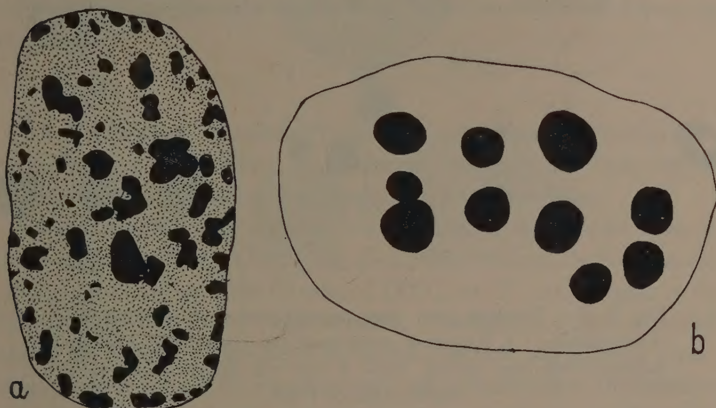


Fig. 2. — *a*, Núcleo em intercinese, mostrando um número elevado de cromocentros. *b*, Núcleo em intercinese onde se podem contar 10 nucléolos. ×3.300.

mocentros (fig. 2*a*). Darlington (1941) refere-se à presença de heterocromatina em *F. pudica*, dizendo «que em 20 outras espécies todas com 12 cromosomas em vez de 13», não encontrou «qualquer coloração diferencial nos núcleos em repouso».

Procedemos à contagem dos nucléolos, a qual foi efectuada nos núcleos em intercinese das células dos meristemas radiculares. O número máximo encontrado foi 10 (fig. 2*b*), sendo, no entanto, o número primário mais elevado. As constrições secundárias assinaladas (fig. 1) devem, pois, corresponder a constrições nucleolares.

Em esfregaços de vértices vegetativos de raiz, notámos o

aparecimento frequente de telofases com pseudo-pontes (fig. 3*a*), originadas, provàvelmente, em virtude de aglutinação cromática (Resende, 1941). As figuras observadas não nos permitem dizer se se trata de pontes verdadeiras. Verificámos o aparecimento mais frequente de pseudo-pontes em *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout.. Igualmente em esfregaços

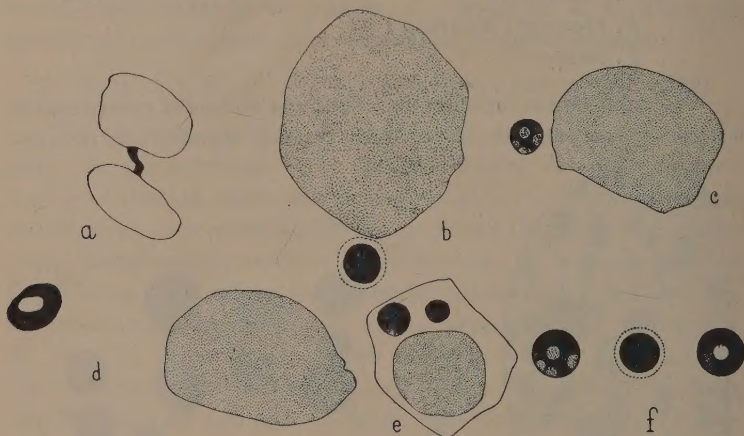


Fig. 3. — *a*, Telofase com uma pseudo-ponte. *b-e*, Núcleos e micronúcleos. *f*, Esquema mostrando as transformações dos micronúcleos que devem levar à sua sua degenerescência e reabsorção. $\times$1.225.

de vértices vegetativos de raiz, observámos células providas de micronúcleos (figs. 3*b-e*). Seguimos o comportamento destes e encontrámos alguns dos diferentes estádios correspondentes às transformações de desintegração que devem levar á sua degenerescência e reabsorção (fig. 3*f*), tal como Fernandes (1946) encontrou nos grãos de polén de *Narcissus jonquilloides* Willk.

* * *

O estudo da meiose, efectuado em *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout., revelou a existência de certas irregularidades, que põem em evidência o hibridismo estrutural desta subespécie.

Frankel (1937) estudou várias espécies de *Fritillaria*, com o fim de verificar a presença ou ausência de pontes na meiose

e de avaliar a sua frequência. Este autor apontou o aparecimento de pontes nas seguintes espécies:

F. pudica 3x
F. citrina 2x
F. dasyphylla 2x
F. dasyphylla 3x

Bennett (1938), estudando *F. chitralensis*, verificou que também apresenta pontes. As observações feitas nas células-mães dos grãos de pólen de *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. revelaram igualmente a existência de pontes e fragmentos acêntricos, tanto na divisão I como na divisão II.

Divisão I

Em anafases e telofases I, aparecem frequentemente pontes e fragmentos acêntricos, que devem resultar do facto de as plantas estudadas serem heterozigotas para inversões.

Pela análise das figuras encontradas e de acordo com as observações de Smith (1935) em *Trillium erectum*, de Richardson (1936) em *Lilium*, de Frankel (1937) em *F. dasyphylla* e de Bennett (1938) em *T. chitralensis*, concluímos que o aparecimento de pontes é devido a *crossing-over* em segmentos invertidos, com a formação consequente de cromatídios dicêntricos e fragmentos acêntricos. As figuras 4*a-c* mostram pontes relativamente pequenas, delgadas, que sofrem rotura com facilidade, associadas a um fragmento muito grande. O comprimento deste fragmento, o tamanho e a espessura do cromatídio dicêntrico e a ausência de pontes duplas indicam que o segmento invertido é pequeno e está situado proximalmente. A observação daquelas figuras ainda permite afirmar que a inversão está localizada no braço comprido de um cromosoma *S* e que se deve ter formado um só quiasma na região invertida. Esta inversão é idêntica à «inversão B», encontrada por Frankel (1937) em *F. dasyphylla*.

O Quadro I mostra a frequência de anafases e telofases I em que se encontram pontes e fragmentos. Dado o facto de as pontes serem sempre curtas e os fragmentos acinéticos muito longos, é provável que todas estas conformações tenham sido

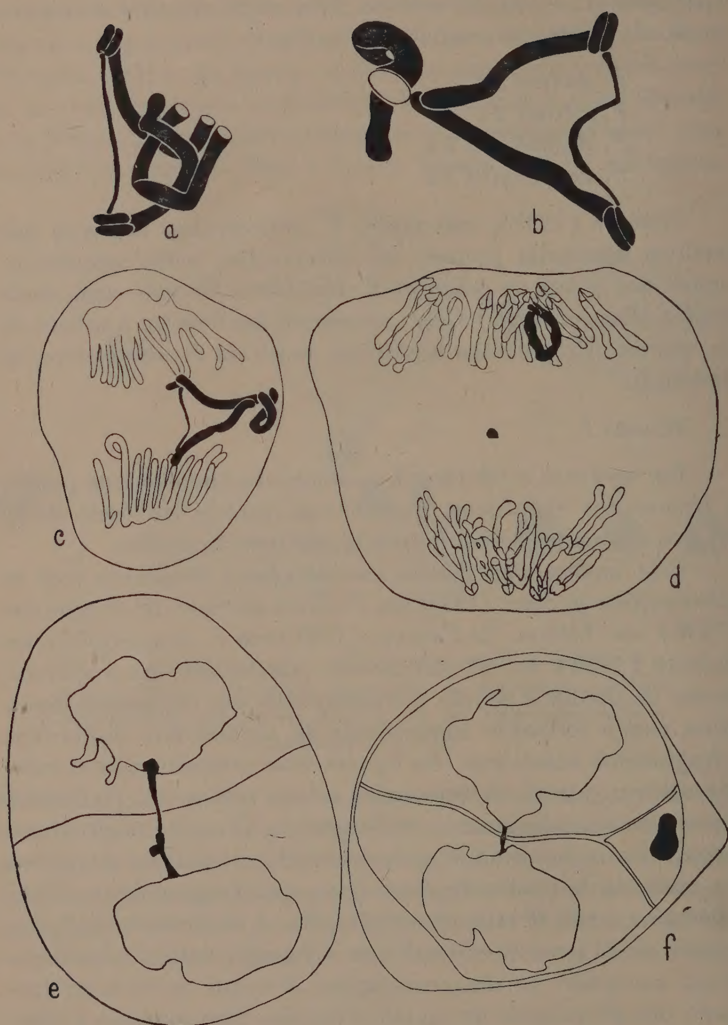


Fig. 4. — *a* e *b*, Pontes acompanhadas de grandes fragmentos acêntricos. ×2.330. *c*, Anafase I com uma ponte e um fragmento. *d*, Anafase I com um «loop-chromatid» e um fragmento pequeno. *e*, Profase II com uma ponte. *f*, Profase II com uma pequena ponte e um micrócito. ×940.

originadas pela mesma inversão e que ela seja a responsável pela maior parte das pontes observadas em *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout.

Além deste tipo de inversão, notámos um outro que é a causa do aparecimento de um «loop-chromatid» (fig. 4*d*) na anafase I. Associado a este «loop-chromatid», aparece um fragmento acêntrico muito pequeno. O tamanho deste fragmento faz supôr que a inversão está situada distalmente. O «loop-chromatid» deve ter-se originado por terem ocorrido dois quiasmas: um na inversão e outro entre o centrómero e o segmento invertido. A frequência do aparecimento desta inversão é pequena, visto que, entre dezenas de células observadas, apenas encontrámos a representada na figura 4*d*.

QUADRO I

Número total de anafases I	Número de anafases I com pontes e fragmentos acêntricos	Número de anafases I sem pontes e fragmentos acêntricos
48	22	26
Número total de telofases I	Número de telofases I com pontes e fragmentos acêntricos	Número de telofases I sem pontes e fragmentos acêntricos
45	16	29

Divisão II

Nesta divisão, observámos igualmente pontes e fragmentos. As figs. 4*e-f* representam duas profases II e as figs. 5*a-c* representam três telofases II, onde se podem notar pontes e fragmentos. É provável que algumas destas pontes sejam pontes da divisão I que persistiram e que outras sejam pontes da divisão II, que devem ter sido originadas em virtude da separação para os polos opostos dos cromatídios do cromosoma em anel.

Tétradas celulares e micrósporos

Devido à formação de pontes e de fragmentos acêntricos nas divisões I e II, as tétradas celulares possuem frequentemente

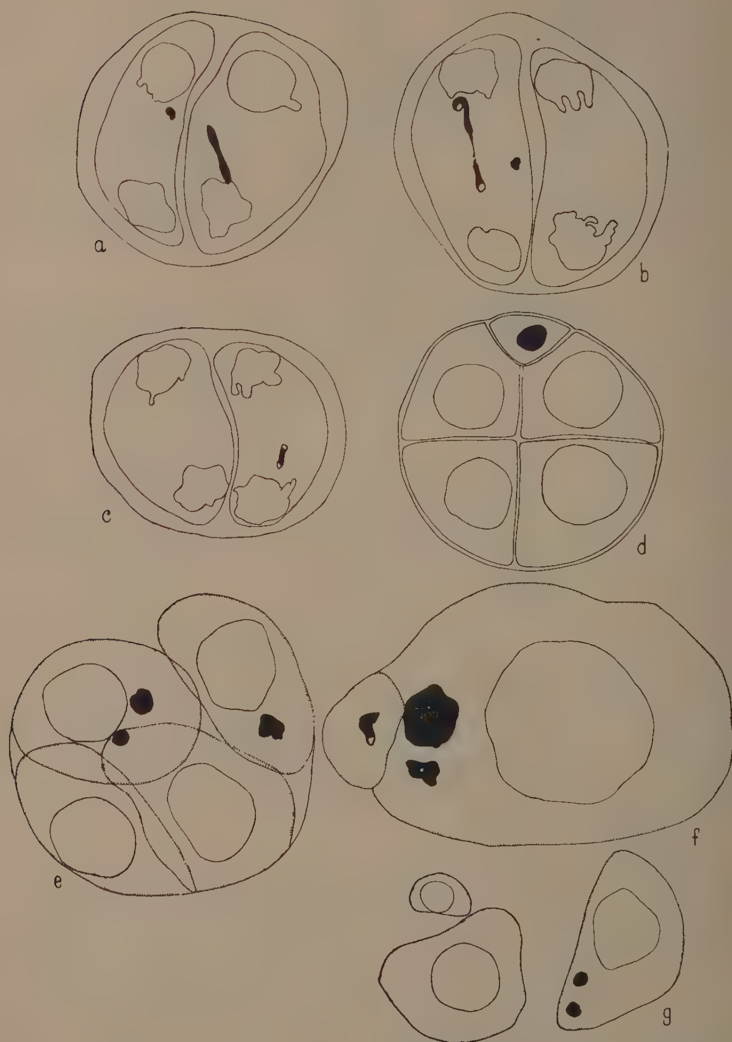


Fig. 5. — *a*, Telofase II com um fragmento e uma ponte que possìvelmente sofreu rotura. ×750. *b*, Telofase II com uma ponte e um fragmento. ×750. *c*, Telofase II com um fragmento. ×750. *d*, Tétrada celular com um micrócito. × 750. *e*, Tétrada celular com micronúcleos. × 750. *f*, Micrósporo com micronúcleos e um micrócito ligado. ×1.820. *g*, Micrósporos com micronúcleos e um micrócito a destacar-se. ×750.

micronúcleos e micrócitos (figs. 5*d*-*e*). Tanto os primeiros como os segundos têm origem em fragmentos que não foram incluídos nos núcleos-filhos. Observámos na mesma tétrada o aparecimento simultâneo de micronúcleos e micrócitos. Os micrócitos apresentam a forma de cunha e apenas se originam quando «o univalente está situado no plano de divisão entre as células-filhas junto à periferia» (FRANKEL, 1937). Pode-se também aqui dizer, como FRANKEL em *F. dasyphylla*, que a posição do fragmento determina o aparecimento da parede celular (fig. 5*d*) e que não é absolutamente necessária a presença do centrómero para a formação da membrana.

Nos grãos de pólen aparecem micronúcleos (figs. 5*f*-*g*) com bastante frequência.

Comportamento especial de certos cromatídios

Entre as numerosas anafases e telofases da divisão I com pontes e fragmentos, destacam-se algumas bastante curiosas (fig. 6). Estas anafases e telofases apresentam pontes e fragmentos acêntricos, resultantes de *crossing-over* num segmento invertido, o qual deve estar localizado proximalmente no braço comprido de um cromosoma *S*. Ligados à ponte, encontram-se os dois cromatídios A e A', que apresentam um comportamento especial. Estes cromatídios possuem um centrómero subterminal, mas, ao mesmo tempo, estão a ser solicitados para os polos por uma outra região situada submedianamente, sobre a qual parecem exercer-se também forças polares de atracção. Cada um destes cromatídios comporta-se como se possuísse uma zona centromérica subterminal e, além desta, uma outra localizada submedianamente (figs. 6*a*-*f*).

Sabe-se que o centrómero desempenha um papel muito importante na separação dos cromosomas e na ascensão polar durante a anafase. São os seus «ciclos especiais de repulsão e divisão que determinam a anafase» (DARLINGTON, 1937, p. 573) e é a sua *mobilidade activa* que contribui para o fenómeno do deslocamento dos cromosomas para os polos. Sendo assim, deveriam ser os centrómeros localizados subterminalmente nos cromatídios A e A' que ocasionariam o movimento da ascensão anafásica destes cromatídios e seriam também os responsáveis

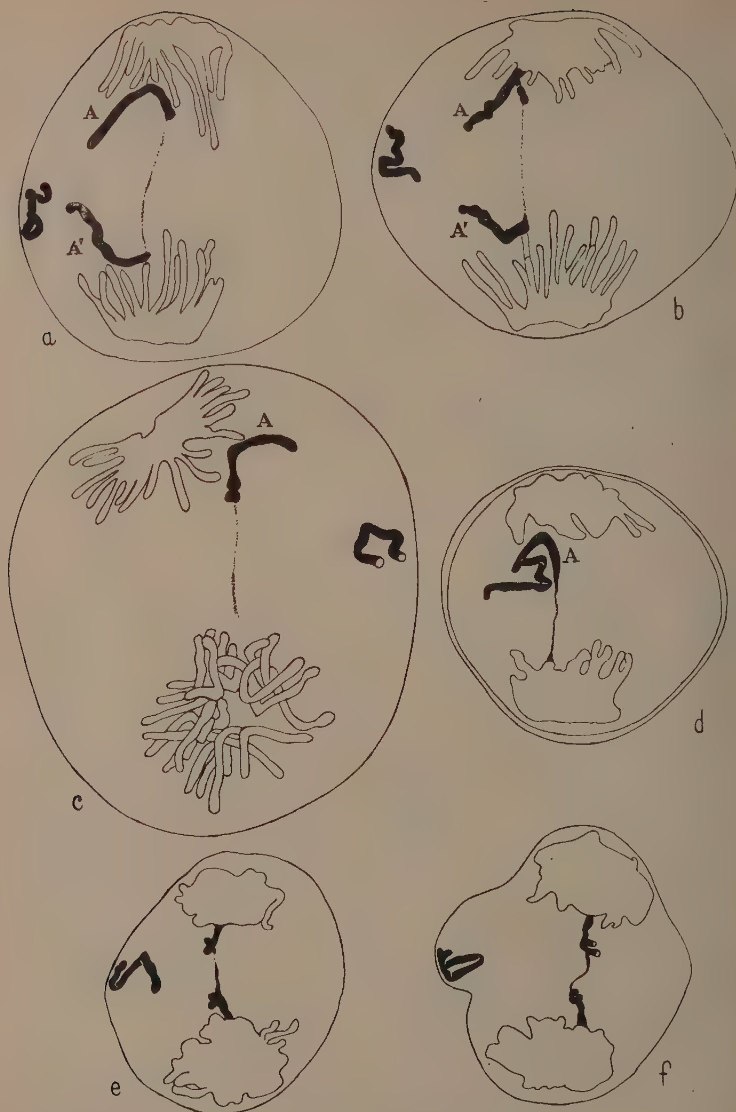


Fig. 6. — *a, b,* Anafases I com pontes, fragmentos acêntricos e os cromatídios A e A' que possuem um comportamento especial. *c,* Anafase I com ponte; nota-se muito nìtidamente um dos cromatídios que possuem duas zonas sobre que se exercem atracções polares. *d,* Telofase I, onde é também bastante evidente o cromatídio referido anteriormente. *e, f,* Telofases I particularmente claras, onde se pode verificar que a mobilidade activa dos centrómeros subterminais foi parcialmente impedida de se manifestar. × 900.

pela divisão e repulsão que determinam a anafase. No entanto, como se pode observar na fig. 6, estes centrómeros não parecem comportar-se como os centrómeros dos cromatídios normais. As telofases representadas nas figs. 6*e-f* são particularmente nítidas. Como se verifica nestas figuras, os centrómeros subterminais não se encontram dirigidos para os polos respectivos, indicando que as atracções polares exercidas sobre eles não foram inteiramente correspondidas. O comportamento destes centrómeros faz-nos supor, portanto, que a sua mobilidade foi impedida parcialmente de se manifestar. O enfraquecimento dessa mobilidade deve ser atribuído à resistência oferecida pelo cromatídio dicêntrico. De facto, só em anafases e telofases com pontes notámos o aparecimento destes cromatídios especiais, porquanto a análise de anafases e telofases sem pontes mostra que todos os cromatídios se comportam normalmente na ascensão anafásica. A dificuldade em que se encontram os centrómeros dos cromatídios A e A' para desempenhar a sua função parece, no entanto, ser compensada pelo aparecimento de uma outra região que iria «auxiliar» a zona centromérica verdadeira no seu papel na anafase. Sobre esta zona exercer-se-iam também forças polares de atracção e assim se explicaria o facto de os cromatídios A e A' estarem a ser solicitados para os polos não só pelos seus centrómeros subterminais com fraca mobilidade activa, mas também por uma outra região submediana, delgada, que parece corresponder a uma outra constrição primária. As figs. 6*a-d* mostram claramente os cromatídios A e A' com os centrómeros subterminais e as zonas submedianas orientadas para os polos.

O conhecimento da estrutura do centrómero poderá auxiliar-nos a compreender melhor este caso. Diferentes estudos têm sido efectuados neste sentido (Schrader, 1936; Darlington, 1939; Prakken e Müntzing, 1942; Ostergren, 1947; e Lima-de-Faria, 1948, 1949). Recentemente, Lima-de-Faria (1949) estudou a estrutura do centrómero dos cromosomas B do centeio e reconheceu três zonas distintas na região centromérica: a primeira, a exterior, de conexão com os braços dos cromosomas; a segunda, a mediana — zona cromomérica — com mobilidade activa; a terceira, a interior, que desempenha um papel especial na divisão.

De acordo com estas observações, poderíamos explicar o comportamento especial destes cromatídios A e A' do seguinte modo: na anafase, em virtude da formação do cromatídio dicêntrico, surgiria uma resistência que iria impedir a zona cromomérica dos centrómeros subterminais de exercer livremente a sua mobilidade activa. Como a zona activamente móvel é precisamente a zona cromomérica, poder-se-ia supor que um ou determinados cromómeros da região submediana dos cromatídios especiais, adquiririam, ou possuiriam já, *mobilidade activa*, sendo assim cada um destes cromatídios A e A' solicitados para os polos não só pelos centrómeros subterminais com a sua mobilidade activa diminuída, mas também pela zona submediana cujos cromómeros passariam a comportar-se como activamente móveis, exercendo-se sobre eles forças polares de atracção. Esses cromómeros poderiam ter-se originado por mutação, a partir de cromómeros normais. Se assim é, os centrómeros poder-se-ão originar *de novo*.

Prakken e Müntzing (1942) encontraram no centeio uns cromosomas especiais — cromosomas T — que, além do centrómero verdadeiro submediano, possuem uma zona situada subterminalmente, sobre a qual se exercem também as forças polares de atracção. Estes cromatídios A e A' que encontrámos são diferentes dos cromosomas T. Tanto estes como aqueles parecem apresentar duas zonas centroméricas. No entanto, a segunda zona centromérica nos cromosomas T está situada terminalmente, enquanto que nos cromatídios A e A' observados em *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. essa zona está situada submedianamente, o que ainda nunca tinha sido encontrado.

Prakken e Müntzing (1942) admitem que esta particularidade seja condicionada por uma estrutura cromosómica especial e que estes fenómenos são controlados gènicamente. Para este caso dos cromatídios A e A' nada podemos dizer. Apenas procurámos apresentar uma explicação lógica em face das configurações especiais observadas. Em estudos futuros tentaremos comprovar completamente esta hipótese teórica, sugerida pela observação do comportamento especial destes cromatídios.

DISCUSSÃO

A descrição apresentada na Flora de Portugal de COUTINHO para a espécie *F. lusitanica* Wickstr. é a seguinte:

« Caule nu na base e depois folhoso até o cimo, com as fôlhas alternas; flores de 20-30 mm., com as tépalas internas um tanto mais largas e mais obtusas que as externas, acastanhado--avermelhadas, frequentemente com uma faixa média amarelada. Planta de 1,5-6 dm., com as fôlhas linear-lanceoladas, as inferiores de 5-10 mm. de largura; cápsula oblonga, subtroncada.»

Para a subespécie *stenophylla*, COUTINHO escreve: « fôlhas lineares, as inferiores com 1-4 mm. de largura, raras vezes mais; cápsula mais arredondada e mais troncada ».

No Manual da Flora Portuguesa de SAMPAIO, a descrição da espécie *F. lusitanica* Wickstr. diz: « fôlhas glaucas, lineares, estreitas e um tanto espessas; perianto com 2-4 cent. de longo, tendo as tépalas externamente subvinoso-escuras, sem faixa dorsal amarela ». Para a outra espécie, *F. stenophylla* Bss. et Reut. admitida por SAMPAIO, a descrição é a que segue: « fôlhas verdes, não glaucas, lineares, muito estreitas e um pouco espessas; perianto de tépalas externamente subvinoso-avermelhadas, em geral com uma faixa dorsal amarela ou esverdeada ».

O critério destes dois autores é, portanto, diferente. COUTINHO admite a existência de uma única espécie com uma subespécie e SAMPAIO considera que se podem distinguir duas espécies. Comparando as descrições de ambos os autores, verificamos que não há concordância entre os diferentes caracteres considerados por um e por outro. Assim, para COUTINHO as plantas de folhas mais largas têm as tépalas com faixa dorsal amarela; para SAMPAIO são, pelo contrário, as que possuem folhas mais estreitas que têm em geral tépalas com faixa dorsal amarela. COUTINHO faz referência à forma da cápsula como carácter distintivo, mas SAMPAIO, na última edição do seu Manual da Flora Portuguesa, não se refere a ele, embora na primeira edição admitisse que o aspecto morfológico das cápsulas das duas espécies era diferente. Estas divergências fizeram-nos supor que o género *Fritillaria* em Portugal deve possuir uma única espécie, a qual apresenta uma certa variabilidade.

O estudo da morfologia externa de um número conside-

rável de plantas, colhidas em diferentes localidades, veio confirmar esta hipótese.

Se é certo que encontrámos plantas cujas características morfológicas coincidem com as descrições ou de COUTINHO ou de SAMPAIO, encontrámos outras que apresentam uma mistura de caracteres, o que torna impossível enquadrá-las ou na espécie *F. lusitanica* Wickstr. ou na espécie *F. stenophylla* Bss. et Reut.

Na mesma população, os diferentes indivíduos apresentam variabilidade e verificámos o aparecimento no mesmo indivíduo de caracteres tanto atribuídos sòmente a *F. lusitanica* Wickstr. como a *F. stenophylla* Bss. et Reut.

Os caracteres distintivos das duas espécies apresentados por COUTINHO e SAMPAIO não devem, portanto, ter um valor absoluto. Estes caracteres não possuem constância e estabilidade para oferecerem plena segurança na distinção sistemática.

Os dados fornecidos pela cariologia mostraram-nos, também, que os comportamentos cariológicos do tipo e da subespécie são absolutamente idênticos.

Por conseguinte, tanto as indicações fornecidas pela cariologia, como as dadas pela morfologia externa permitem concluir que entre as diferentes plantas do género *Fritillaria* que crescem espontâneamente em Portugal não há uma distinção nítida que permita estabelecer duas espécies distintas, ou uma espécie com uma subespécie. Deverá existir, pois, uma única espécie — *F. lusitanica* — a qual apresenta uma variabilidade acentuada.

RESUMO E CONCLUSÕES

1. COUTINHO (1939) considera que, em Portugal, o género *Fritillaria* se encontra representado por uma única espécie com uma subespécie. SAMPAIO (1947) admite, porém, a existência de duas espécies. Com o fim de esclarecer qual o valor das entidades taxonómicas reconhecidas por aqueles autores, estudámos a cariologia e a morfologia externa de plantas pertencentes ao género *Fritillaria* existentes na flora portuguesa.

2. O tipo e a subespécie possuem um idiograma semelhante, representado pela seguinte fórmula cromosómica:

$$2n = 24 = 2\,LL + 2\,Lm + 6\,Lp + 12\,L. + 2\,l.$$

Ainda, quer o tipo quer a subespécie possuem heterocromatina nos núcleos, e pseudo-pontes e micronúcleos nas células dos meristemas radiculares. O tipo e a subespécie têm, portanto, um comportamento cariológico idêntico.

3. O número máximo de nucléolos é relativamente elevado, provàvelmente superior a 10. Deste modo, as numerosas constrições acinéticas assinaladas na guarnição cromosómica devem corresponder a constrições nucleolares.

4. A aparição de pontes nas anafases I e II, assim como a formação de cromosomas em anel na anafase I, revelam que *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. é um híbrido estrutural.

5. Verificámos que alguns cromatídios provenientes da disjunção de cromosomas com, pelo menos, uma inversão, apresentam um comportamento especial na anafase I. Estes cromatídios, quando ligados a pontes, comportam-se como se possuissem duas zonas centroméricas. A primeira, localizada subterminalmente, corresponde ao centrómero normal, enquanto que a segunda, de localização submediana, manifesta a sua acção quando os movimentos do centrómero normal se encontram dificultados pela interferência da ponte. É provável que a segunda zona centromérica tenha sido originada por mutação a partir de um ou mais cromómeros normais. Se assim é, torna-se verosímil que os centrómeros se possam originar de novo.

6. Os dados cariológicos e os da morfologia externa não confirmam nem o critério de Coutinho nem o de Sampaio. Deste modo, o género *Fritillaria*, deve possuir, em Portugal, uma única espécie, *F. lusitanica* Wickstr., caracterizada por um polimorfismo acentuado.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. D'après Coutinho (1939), le genre *Fritillaria* se trouve représenté au Portugal par une seule espèce, *F. lusitanica* Wickstr., dans laquelle on peut distinguer une sousespèce, *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. Sampaio (1947) n'est pas du même avis, puisqu'il considère

autonome l'espèce de BOISSIER et REUTER. Dans le but de contribuer à l'éclaircissement de ce problème taxonomique, nous avons entrepris l'étude de ces plantes aux points de vue caryologique et de la morphologie externe.

2. Le type et la sousespèce (acception de COUTINHO) possèdent un idiogramme semblable, qui peut être traduit par la formule suivante:

$$2n = 24 = 2\ LL + 2\ Lm + 6\ Lp + 12\ L. + 2\ l.$$

D'autre part, on constate que tant le type comme la sousespèce se comportent d'une façon semblable en ce qui concerne l'existence de l'hétérochromatine dans les noyaux et l'apparition de pseudo-ponts et de micronoyaux dans les cellules des méristèmes radiculaires. Le type et la sousespèce sont donc semblables au point de vue caryologique.

3. Le nombre maximum de nucléoles est relativement élevé, probablement supérieur à 10. De cette façon, les nombreuses constrictions acinétiques montrées par les chromosomes de la guarniture doivent correspondre à des constrictions nucléolaires.

4. L'apparition de ponts aux anaphases des divisions I et II, ainsi que la formation de chromosomes en anneaux à l'anaphase I, révèlent que *F. lusitanica* Wickstr. ssp. *stenophylla* (Bss. et Reut.) Cout. est un hybride structurel, comme cela arrive chez d'autres espèces du genre.

5. Nous avons constaté que quelques chromatides provenant de la disjonction de chromosomes pourvus tout au moins d'une inversion présentent un comportement particulier à l'anaphase I.

Ces chromatides, lorsqu'ils demeurent liés à des ponts, se conduisent comme s'ils étaient pourvus de deux régions centromériques. La première, localisée sousterminalement, correspond au centromère normal, tandis que la deuxième, à localisation sousmédiane, ne manifeste son action que lorsque les mouvements du centromère normal sont empêchés par le pont. Il est probable que la deuxième région centromérique ait été engendrée par mutation à partir d'un chromomère ou d'un groupe

de chromomères normaux. S'il en est ainsi, il est probable que des centromères pourront prendre naissance *de novo*.

6. Les données caryologiques et ceux de la morphologie externe ne confirment ni les idées de COUTINHO ni celles de SAMPAIO. Il semble plutôt qu'il n'existe qu'une seule espèce, *F. lusitanica* Wickstr., caractérisée par un remarquable polymorphisme.

BIBLIOGRAFIA

BHADURI, P. N.

1941 *Chronica Botanica*, **6**, 14, 319.

BENNETT, E. S.

1938 The origin and behaviour of chiasmata XIV. *Fritillaria chitralensis*. *Cytologia*, **8**, 443-451.

BOTELHO, M. e MENDES, E. J.

1946 Cariological studies on *Fritillaria lusitanica* Wickstr. I. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**, 310.

COUTIÑHO, A. X. P.

1913 *A Flora de Portugal*, ed. I. Lisboa.

1939 *A Flora de Portugal*, ed. II. Lisboa.

DARLINGTON, C. D.

1936 The internal mechanics of the chromosomes V. Relational coiling of chromatids at mitosis. *Cytologia*, **7**, 248-255.

1937 *Recent advances in cytology*, second edition. London.

1939 Misdivision and the genetics of the centromere. *J. Genetics*, **37**, 341-364.

DARLINGTON, C. D. e LA COUR, L.

1941 The detection of inert genes. *J. Hered.*, **32**, 115-121.

DARLINGTON, C. D. e JANAKI-AMMAL, E.

1945 *Chromosome atlas of cultivated plants*. London.

FERNANDES, A.

1946 Sur le devenir des micronoyaux formés à la microsporogenèse. *Bol. Soc. Broteriana*, **20** (2.ª sér.), 181-194.

FERNANDES, A., GARCIA, J. e FERNANDES, R.

1948 Herborizações nos domínios da Fundação da Casa de Bragança I. Vendas Novas. *Mem. Soc. Broteriana*, **4**, 5-89.

FRANKEL, O. H.

1937 Inversions in *Fritillaria*. *J. Genetics*, **24**, 447-462.

LIMA-DE-FARIA, A.

1948 B chromosomes of rye at pachytene. *Portug. Acta Biol.* (A), **3**, 167-174.

1949 The structure of the centromere of the chromosomes of rye. *Hereditas*, **35**, 77-85.

McClintock, B.
1929 A method for making aceto-carmin smears permanent. *Stain Technol.*, **4**, 53-56.
Ostergren, G.
1947 Proximal heterochromatin structure of the centromere and the mechanism of its misdivision. *Bot. Not.*, **2**, 176-177.
Prakken, R. e Müntzing, A.
1942 A meiotic peculiarity in rye, simulating a terminal centromere. *Hereditas*, **28**, 441-482.
Resende, F.
1941 Movimento, aglutinação, pontes e distensão dos cromosomas na mitose. *Bol. Soc. Broteriana*, **15** (2.ª série), 163-200.
Richardson, M.
1936 Structural hybridity in *Lilium* Martagon *album* × *L. Hansonii*. *J. Genetics*, **32**, 411-450.
Sampaio, G.
1910 *Manual da Flora Portuguesa*, ed. I. Porto.
1947 *Manual da Flora Portuguesa*, ed. II. Porto.
Schrader, F.
1936 The kinetochore or spindle fibre locus in *Amphisema tridactylum*. *Biol. Bull.*, **70**, 3, 484-498.
Smith, S. C.
1935 Chromosome fragmentation produced by crossing-over in *Trillium erectum* L. *J. Genetics*, **30**, 227-232.

ADDITIONS À LA FLORE CHAROLOGIQUE DU PORTUGAL

IV

par

A. GONÇALVES DA CUNHA
(Institut Rocha Cabral, Lisbonne)

Reçu le 16 Jauvier 1951.

PENDANT nos voyages en Alentejo nous avons eu l'occasion de cueillir quelques exemplaires de Characées que nous avons étudiés et déterminés La plupart de ces exemplaires vient élargir l'aire de dispersion des espèces citées.

Le Bas Alentejo est une des provinces portugaises le plus mal exploitées du point de vue charologique, en n'existant qu'un petit nombre d'exemplaires cueillis à cette province dans les herbiers portugais.

En effect, on ne connait que de certains exemplaires cueillis par A. R. da Cunha à Beja en 1882, Gonçalo Sampaio à Odemira en 1905 et Florival Mamede à Saboia en 1933, outre les exemplaires que nous-même avons cueillis à Saboia en 1933 et à Aljustrel en 1939.

Nos exploitations se sont limitées dernièrement aux environs de Ferreira-do-Alentejo et à des rhizières aux environs d'Águas-de-Moura et d'Alcacer-do-Sal. À toutes ces localités les Characées sont très abondantes, surtout aux rhizières, où elles forment parfois une végétation très dense. Aux environs de Ferreira-do-Alentejo on peut rencontrer des Characées dans des marais, des étangs et des ruisseaux de très faible courante.

Cette note ajoute de nouvelles localités portugaises pour catorze espèces et variétés de Characées appartenant aux genres *Nitella* Ag. et *Chara* L., les seules que nous avons trouvés.

Parmi ces espèces et variétés il y en a sept qui sont nouvelles pour le Bas Alentejo, lesquelles sont *Nitella translucens* (Pers.) Ag., *Nitella tenuissima* (Desv.) Kütz., *Nitella Dixonii* H. et J. Gr., *Chara vulgaris* L. var. *longibracteata* Kütz., *Chara*

vulgaris L. var. *refracta* Kütz., *Chara connivens* Braun et *Chara delicatula* Ag.

Les autres sept espèces et variétés avaient déjà été cueillies au Bas Alentejo, si bien qu'à d'autres localités. Ce sont *Nitella ornithopoda* Braun (leg. Gonçalves da Cunha, Saboia 1933), *Nitella hyalina* (DC.) Ag. (leg. Gonçalo Sampaio, Odemira 1905), *Chara vulgaris* L. var. *paragymnophylla* Mig. (leg. Florival Mamede, Saboia 1933), *Chara vulgaris* L. var. *condensata* Breb. (leg. A. R. da Cunha, Beja 1882), *Chara vulgaris* L. var. *batrachosperma* Thuill. (leg. A. R. da Cunha, Beja 1882), *Chara aspera* Willd. (leg. Gonçalves da Cunha, Aljustrel, 1939) et *Chara fragifera* Dur. (leg. Gonçalves da Cunha, Saboia 1933 et Aljustrel 1939).

Pour la connaissance de tous les exemplaires de Characées cueillis antérieurement au Portugal, nous renvoyons le lecteur pour nos travaux publiés précédemment, en spécial pour ceux que nous avons publiés depuis 1942 ([1]).

NITELLA Ag.

Nitella translucens (Pers.) Ag.

Citations du Portugal : Tâmega, antérieur à 1881; pr. Costa, 1843; pr. Calhariz, 1844 et 1845; Samora, 1849; Valadares, pr. Porto, 1879; entre Oliveira-do-Bairro et Aveiro, 1880; Ribeira--de-Canha, pr. Montemor-o-Novo, 1882; Viana-do-Castelo; Rego de Linhares, Lanheses, 1901; Pinhal do Urso, Lagoa dos Linhos, 1931; Pateira de Fermentelos, 1931; Lagoa de Óbidos, 1938; entre Ílhavo et Vagos, 1942; pr. Ílhavo, dans les salines, 1943.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdade de Monte Branco, avril 1947.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdadinha, juillet 1947.

([1]) Contribuição para o estudo dos Carófitos portugueses, *Rev. da Fac. de Ciências de Lisboa*, II, 227, 1942; Quelques observations sur la distribution géographique des Characées au Portugal, *Brotéria*, XI, 56, 1942; Additions à la flore charologique du Portugal, II, *Bull. de la Soc. Portug. des Sc. Nat.*, XIV, 87, 1943; Id.; III, Ibid., XIV, 139, 1943.

Nitella tenuissima (Desv.) Kutz.

Citations du Portugal: Pampilhosa-do-Botão, 1933; Montemor-o-Velho, dans un étang, 1933; Ilha de S. Miguel: Lagoa das Sete Cidades et Lagoa das Furnas, 1938; Pinhal do Urso, 1940; Ria de Aveiro, pr. Angeja, 1940; pr. Vagos, dans un marais, 1943.

Pr. Águas-de-Moura, aux rhizières de Marateca, avril 1947.

Nitella ornithopoda Braun

Citations du Portugal: Serra do Gerez, pr. Borrageiro antérieur à 1889; entre Fornos, Santo António et Palmela, 1841; entre Boina et Monchique, 1847; Carregal-do-Sal, 1881; Saboia: Palhota, 1933; Ilha Terceira, dans un étang pr. Angra-do--Heroismo, 1937.

Pr. Ferreira-do-Alentejo, dans un étang à Herdade das Cortes, avril 1947.

Nitella Dixonii H. et J. Gr.

Citations du Portugal: Monchique, dans des marais et d'étangs, 1911; environs de Porto, s/d; Póvoa-de-Lanhoso: S. Gens, dans des marais, s/d; Monchique, 1932 et 1933; Lagoa de Óbidos, 1938.

Pr. Alcacer-do-Sal et pr. Águas-de-Moura: Marateca, dans des marais, avril 1947.

Nitella hyalina (DC.) Ag.

Citations du Portugal: Espinho: Barrinha de Esmoriz, 1889; Odemira: Torrinha, dans le rio Mira, 1905; Lagoa da Barrinha, 1930 et 1931; Pinhal do Urso: Lagoa dos Linhos, 1931 et 1933; Pateira de Fermentelos, 1931; Ria de Aveiro, 1931; pr. Ílhavo, 1943.

Pr. Águas-de-Moura, aux rhizières de Marateca, avril 1948.

Pr. Ferreira-do-Alentejo, dans un étang à Herdade das Cortes, avril 1947.

CHARA L.

Chara vugaris L. var. **paragymnophylla** Mig.

Citations du Portugal: Coimbra: Penedo da Meditação, dans un étang, antérieur à 1881; Trafaria, dans des marais, 1849; Queluz, 1881; Saboia: Vale Estibeiros, 1933; Lagoa de Albufeira, 1937; Praia de Santa Cruz, dans un marais, 1943.

Pr. Águas-de-Moura, aux rhizières de Marateca, avril 1947.

Chara vulgaris L. var. **condensata** Breb.

Citations du Portugal: Beja, 1882; Montemor-o-Velho, dans un étang, 1933.

Pr. Alcacer-do-Sal, dans des rhizières et des marais, avril 1947.

Chara vulgaris L. var. **longibracteata** Kütz.

Citations du Portugal: Mafra, 1840; Costa da Trafaria, dans des marais, 1843 et 1849; Calhariz, dans le Tejo, 1845; entre Cruz Quebrada et Carnaxide, 1847; Ota, 1847; Antanhol, pr. Coimbra, 1848; Coimbra: Quinta das Lágrimas, dans la Fonte dos Amores et dans un étang 1880 et 1933; entre Oeiras et Paço de Arcos, 1881; Ribeira de Caparide, pr. Cascais, 1881 et 1886; pr. Lisboa, 1881; Buarcos, 1881; Belas, 1881; Valadares: Rio de Mouro, 1885; Golegã: Ribeira do Paul, 1885; Porto de Mós, dans le Rio Lena, 1887; Lisboa, dans des étangs du Jardin Botanique, 1932; Benavente, 1932; Rio de Mouro, pr. Cacém, 1933; Montemor-o-Velho, aux rhizières, 1933; Lobão: Moinhos do Frazão, pr. Tondela, 1934; Troia, dans des étangs, 1934; Monte Real, au Campo da Volta, 1934; Lagoa de Albufeira, 1937; Lagoa de Óbidos, 1938; Caldas da Felgueira, dans des marais, 1940; pr. Praia das Maçãs, dans un étang, 1943; Azenhas-do-Mar, dans un ruisseau, 1943; pr. Angeja et Braço de Mira, 1943; Caldas da Rainha: Santa Catarina, 1943.

Pr. Alcácer-do-Sal et pr. Águas-de-Moura: Marateca, dans des rhizières, avril 1947.

Pr. Ferreira-do-Alentejo, dans un étang à Herdade das Cortes, avril 1947.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdadinha, juillet 1497.

Chara vulgaris L. var. **batrachosperma** Thuill.

Citation du Portugal : Beja, 1882.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdade do Monte Branco, avril 1947.

Chara vulgaris L. var. **refracta** Kütz.

Citations du Portugal : Buarcos, 1879 ; Setubal : Quinta da Algodeia, 1933 ; Lagoa de Óbidos, 1938.

Pr. Alcácer-do-Sal, dans des rhizières, avril 1947.

Chara aspera Willd.

Citations du Portugal : Pr. Aveiro, antérieur à 1881 ; Comporta, pr. Setubal, aux rhizières, 1848 ; Costa da Caparica, 1882 ; Lagoa da Barrinha, pr. Mira, 1931 ; Lagoa de Óbidos, 1938 ; pr. Aljustrel, dans un marais, 1939 ; Ria de Aveiro, pr. Angeja, 1940.

Pr. Alcácer-do-Sal, dans des rhizières et des marais, avril 1947.

Chara connivens Braun

Citations du Portugal : Ria de Aveiro, pr. Angeja, 1940 ; pr. Alcácer-do-Sal : Sapal, 1941 ; pr. Angeja et Pateira de Fermentelos, 1943.

Pr. Águas-de-Moura, dans des rhizières de Mareteca, avril 1947.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdade do Monte Branco, avril 1947.

Chara fragifera Dur.

Citations du Portugal : Comporta, pr. Setubal, dans des rhizières, 1848 ; Carregal-do-Sal, 1880 ; Pinhal do Urso : Lagoa dos Linhos, 1931 et 1933 ; Saboia : Palhota, 1933 ; Sagres, dans des lagunes et des marais, 1933 et 1939 ; pr. Aljustrel, dans un marais, 1939.

Pr. Alcácer-do-Sal, dans des rhizières, avril 1947.

Ferreira-do-Alentejo, dans un ruisseau à Herdadinha, juillet 1947.

Chara delicatula Ag.

Citations du Portugal: Coimbra: Montes de Santa Clara, dans un puit, 1878; Matosinhos: Regato do Prado, 1888; Leça de Palmeira: Boa Nova, 1889; Pinhal do Urso: Lagoa dos Linhos, 1931 et 1933; Pateira de Fermentelos, 1931; Ria de Aveiro: Canal de S. Jacinto, 1931; Pragança, pr. Serra de Montejunto, dans un étang, 1936; Lagoa de Albufeira, 1937; Lagoa de Óbidos, dans un marais, 1941; pr. Vagos, dans un marais, pr. Ílhavo, dans les salines et Braço de Mira, 1943.

Pr. Águas-de-Moura, dans un marais à Marateca, avil 1947.

CONSIDERAÇÕES SOBRE A REPRODUÇÃO E A MULTIPLICAÇÃO DAS DESMÍDIAS

por

JOAQUIM SAMPAIO

Recebido para publicação em 20 de Janeiro de 1951.

O presente trabalho é o segundo (¹) de uma série que esperamos publicar sobre a reprodução e a multiplicação das Desmídias, assuntos que, em nosso critério, bem merecem uma cuidadosa revisão, pois, sob vários aspectos, vemo-los bastante emaranhados e confusos no conjunto das publicações da especialidade. E este estado caótico mais se avoluma ainda se atendermos a certas considerações de alguns teratologistas que, para explicarem esquisitas anomalias, interpretam a seu belprazer fases e operações da divisão vegetativa, indo de encontro, assim, àquilo que os factos demonstram (²).

Entretanto e ao contrário — esclareça-se — algumas dessas considerações, de boa lógica, fundadas na observação e ìntimamente relacionadas com a biologia da reprodução e da multiplicação das Desmídias, são de grande alcance para o nosso objectivo.

Sem dúvida, certas investigações de teratologistas, obrigando o investigador a estudar e descrever operações da multiplicação, têm prestado relevantes serviços neste capítulo.

As culturas artificiais, quanto à reprodução e à multiplicação, têm fornecido também — e continuarão a fornecer — preciosas bases de explicação dos mais palpitantes problemas.

Um dos investigadores que, nos últimos tempos, mais têm contribuído para o esclarecimento desses problemas é o Sr. M. Lefevre, cujos trabalhos, revestidos de um acentuado escrúpulo, revelam uma vasta preparação e indiscutível competência.

Este autor (1939, págs. 4-6, figs. 6-12) expõe as fases da divisão em *Cosmariae* com uma clareza e rigor científico que

---

(¹) O primeiro trabalho foi publicado no *Boletim da Sociedade Broteriana* (vol. XXIV, 2.ª série, 1950, págs. 41-71).

(²) Veja, por exemplo, no nosso trabalho anterior (1950), a nota ao fim da página 57.

os espíritos mais exigentes não poderão exceder. É igualmente digno de crédito o modo como nos descreve a estrutura da membrana das *Placodermae*, fornecendo-nos, a este respeito, vários exemplos, todos eles de grande importância para o fim do presente estudo (veja a chamada ao fim da pág. 35).

Os trabalhos de M. Lefevre lêem-se, portanto, com particular agrado. Por isso mesmo, não resistimos à tentação de, aqui, lhes fazermos especial e bem merecida referência.

Também é nosso propósito servirmo-nos deste ensejo para emendar alguns erros reproduzidos no nosso trabalho, de 1944, «Desmídias Portuguesas». Certos desses erros não são mais, pois, que a repetição de faltas, de várias ordens, praticadas por outros autores e que, então, nos passaram despercebidas.

Assim, pensamos exprimir circunstanciadamente, nestes artigos, o nosso actual modo de ver acerca da reprodução e da multiplicação das Desmídias.

Domina-nos a preocupação de expor, argumentar e arrumar os assuntos com a máxima brevidade e clareza que nos seja possível, afastando-nos, portanto, de divagações inúteis, que só servem para armar ao aparato, ao reclamo, mostrando grande erudição onde ela não é precisa.

Utilizaremos, no entanto, a transcrição de matéria de outros autores sempre que isso nos pareça conveniente para melhor esclarecimento das nossas conclusões.

O trabalho a que nos propomos é árduo e arriscado, pois, para o seu cabal desempenho, exige vastos conhecimentos — quer de ordem geral, quer de ordem especial — que, sem dúvida, não possuimos. Todavia, é preferível fazer-se alguma coisa de aproveitável do que não fazer-se nada. E a boa vontade também deve ser tomada em linha de conta...

Esperamos, por isso, que nos sejam relevadas quaisquer faltas, cientes, contudo, de que a discussão, quando desviada de intuitos reservados, é um óptimo meio de esclarecimento da verdade e, não raras vezes, um poderoso incentivo da inspiração e da descoberta científica.

Sob este aspecto, aceitamos a polémica — e vemo-la até com muito bons olhos — desde, acentue-se, que não se apresente eivada de malícia e seja posta com a devida cortesia, enfim, desde que obedeça, sòmente, a um objectivo — *servir a Ciência.*

Poder-se-á à primeira vista pensar que as considerações e conclusões que a seguir aduzimos não passam do fruto de um trabalho puramente de ordem teórica, faltando-lhes, portanto, as indispensáveis bases fornecidas pela observação, isto é, pela experiência.

Pelo contrário, o estudo aqui apresentado baseia-se, exclusivamente, na análise de factos, quer da nossa própria observação, quer da observação de outros investigadores, que, embora muitas vezes não os explicassem, os passaram a letra redonda, isto é, declararam tê-los presenceado, descrevendo-os conforme o estado e as condições em que os surpreenderam.

Seleccionando e ordenando esses factos, procurámos analisá-los e relacioná-los, para, finalmente, dentro dos actuais conhecimentos da Botânica, lhes darmos a explicação que nos pareceu caber-lhes.

Jamais, portanto, nos abalançamos a apresentar soluções que a observação e a análise não confirmem.

Não fizemos, nem precisamos de fazer, quaisquer ensaios laboratoriais, porque as nossas deduções baseiam-se, todas, na observação na própria natureza, sem dúvida, o melhor laboratório que, nesta ordem de estudos, podemos utilizar.

Fomos sempre avêsso, no estudo das Ciências Naturais, a aceitar afirmações ou conclusões puramente teóricas, como muitas que, com base em passagens hipotéticas, às vezes bem extravagantes, apenas reveladoras de grande poder imaginativo, pretendem explicar fenómenos que se conservam muito obscuros, que, em suma, a luz dos nossos conhecimentos ainda não penetrou.

Cremos que os factos se determinam e sucedem pouco mais ou menos como a seguir os expomos e que, deste modo, os ficólogos estejam de acordo connosco. Mas, se assim não fôr, considerem-se, pelo menos, equacionados já os vários problemas suscitados, e, então, muito estimaríamos conhecer a opinião, a seu respeito, daquelas pessoas doutas em assuntos de tal teor.

Porto, Setembro de 1950

JOAQUIM SAMPAIO

A nosso ver, nas Desmídias, mais tarde ou mais cedo, a membrana celular modifica-se ou por gelificação total (algumas *Sacodermae*) [1] ou por incrustação (algumas *Sacodermae* e todas as *Placodermae*) [2].

Já sabemos que na incrustação se forma à superfície da membrana ou nos seus estratos mais externos uma camada de outra matéria, como acontece na mineralização, em que as camadas externas da parede celular se incrustam de uma substância mineral, que, no caso das Desmídias, supomos ser carbonato ou sulfato de cálcio, ou, ainda, compostos de ferro.

Igualmente é do nosso conhecimento que as células vegetais envelhecidas não se multiplicam, e que aquelas que o forem por modificação química da sua membrana jamais podem remoçar. No entanto, e como veremos, estas lacunas, nas Desmídias, preenchem-nas, cada qual na sua altura, a conjugação e a esporulação, cujo fim, como veremos também, não é multiplicar o indivíduo.

Como se sabe, nas Diatomáceas, plantas unicelulares intensamente silificadas, devido ao modo de funcionamento das duas valvas que formam a respectiva membrana, a célula executa, perfeitamente, a divisão por sissiparidade, que constitui o seu processo corrente de se multiplicar. Todavia, já o mesmo

---

[1] Veja, por exemplo, o quadro que apresentámos em trabalho anterior (1950), e, nesse mesmo trabalho, a pág. 50. O estudo dos casos de gelificação total da membrana reservámo-lo para publicação futura.

[2] A membrana das Desmídias é, dum modo geral, constituída de celulose com uma mistura variável de pectose, e apresenta-se, além disso, *mais ou menos incrustada de matérias minerais, tais como: carbonato e sulfato de cálcio, sílica, e, por vezes, compostos de ferro.* Vulgarmente é incolor, mas casos há em que se apresenta corada dum amarelo-palha ou dum castanho-avermelhado, *devido aos compostos de ferro.* (J. SAMPAIO, 1944, pág. 23).

não sucede com as Desmídias, em que a célula, uma vez intensamente mineralizada, jamais se divide. A estrutura da membrana das Desmídias não lhes permite, pois, uma acção idêntica à das Diatomáceas (1).

Portanto, a nosso ver, nas Desmídias, a célula, uma vez intensamente mineralizada, jamais se divide. Esta lacuna, no entanto, e como dissemos, preenchem-na, cada qual na sua altura, a conjugação e a esporulação, cujo fim, como dissemos também, não é multiplicar o indivíduo. E facto análogo se dá nas Diatomáceas quando, por efeito da divisão, o decrescimento do tamanho das valvas atinge tal valor que, cessando aquela operação multiplicadora, intervém a produção de auxósporos,

---

(1) M. LEFEVRE (l. c., págs. 2-4) diz-nos que a estrutura da membrana das Desmídias diverge segundo os géneros e, às vezes, segundo as espécies de um mesmo género (*Closterium* e *Penium*, por exemplo).

A membrana, no dizer deste autor, e como de facto, pode apresentar-se flexível, fina, transparente e incolor (*Netrium* e certas espécies de *Micrasterias, Cosmarium, Closterium* e *Staurastrum*), ou, pelo contrário, rígida e espessa (*Cosmarium reniforme* e *C. Brebissonii*), frágil e colorida (*Closterium angustatum, Cl. costatum, Penium margaritaceum*, etc.).

Diz LEFEVRE que a membrana é de natureza pecto-celulósica, como o mostram as reacções microquímicas pelo vermelho do Congo, azurina brilhante e vermelho de ruténio. Contudo, acentua que certas anomalias encontradas no decurso dos seus ensaios de coloração parece provarem que as membranas *espessas* são *fortemente incrustadas por uma matéria ainda mal determinada, que não dá as reacções da verdadeira celulose, nem as dos compostos pécticos.*

Diz o mesmo autor que, além disso, a membrana se apresenta parcialmente descontínua, ao menos nas espécies *fortemente incrustadas*. É heterogénea, distinguindo-se-lhe quase sempre uma primeira camada — a qual LEFEVRE denomina «camada geradora» — *viva*, flexível, plástica, recoberta de uma segunda formação ornamentada, rígida, inerte, *incrustada*, perfurada por numerosos poros, que permitem ao protoplasma comunicar com o exterior. A camada interna apresenta finos prolongamentos, que atravessam a camada inerte e cercam toda a célula de um invólucro mucilaginoso, frequentemente muito largo (*Staurastrum, Arthrodesmus, Hyalotheca*, etc.), e só às vezes um tanto estreito (*Closterium*).

No género *Closterium*, a solução de continuidade da membrana está *num sulco de rotura*. Consta este sulco de uma estreita lacuna anelar, aberta na camada *incrustada* e que deixa a *nú* a camada geradora. *É neste ponto fraco que, no decurso da divisão, se dá a separação da membrana.*

Em *Cosmarium, Pleurotaenium*, etc., os dois hemissomas apresentam-se

a qual pode operar-se ou por um processo vegetativo de renovação ou por um processo sexual.

Deste modo, e como vamos demonstrar, nas Desmídias, a conjugação e a esporulação estão para a mineralização da membrana, respectivamente, de um ou de ambos os hemissomas, na mesma razão que, nas Diatomáceas, a auxosporulação está para o decrescimento do tamanho das valvas.

As análises microquímicas têm-nos demonstrado que a membrana celular, nas Desmídias, se encontra mais ou menos incrustada de matérias minerais. Tal incrustação constitui hoje um facto conhecido por todos os algologistas, citando-o alguns autores em obras de ordem geral.

Já em 1858 e 1884, respectivamente, M. DE BARY e F. GAY (vide J. COMÈRE, 1901, pág. 12) verificaram que a membrana

---

embutidos um no outro, sobre uma pequena porção do seu comprimento. Existe, mesmo, uma espécie de *agrafage* rudimentar, que aumenta a resistência da junção dos dois hemissomas.

Em *todas* as *Placordermae*, e segundo ainda LEFEVRE, a camada *geradora* desempenha um papel importante *no momento da divisão*. Serve de conectivo interno à zona de embutimento, contribuindo, assim, para manter a coesão entre as duas semicélulas embutidas, e ligadas, ainda, por aquela espécie de «agrafage».

Enfim, de um modo geral, as formas de Desmídias estruturalmente mais simples *(Sacodermae)* possuem a membrana fina, lisa, formada de uma única peça e de uma só camada; porém, os tipos de estrutura mais complexa *(Placodermae)* apresentam-na quase sempre descontínua e heterogénea, isto é, constituída de duas a quatro peças embutidas hermèticamente — em certos casos, ligadas por uma espécie de *agrafage* e, ainda, de tal modo unidas que, de ordinário, é difícil distinguir a sua linha de junção — e, *quando adulta*, composta de duas camadas sobrepostas, sendo a interior muito fina, contínua, viva, flexível e plástica, e a exterior espessa, descontínua, rígida, inerte, provida de pequeníssimos poros, *mais ou menos incrustada de matérias minerais* e, não raras vezes, variadamente ornamentada.

Note-se que o invólucro mucoso apresentado pelas Desmídias é de tal modo esvaecido que em geral só se torna conspícuo usando-se corantes apropriados, como o azul de metileno e a tinta da China diluída, para a qual o muco não mostra qualquer afinidade. Nós, abstraindo desta técnica especial, só o conseguimos observar em *Hyalotheca* e em certas formas de *Mesotaenium, Cylindrocystis* e *Spirotaenia*. Nas *Sacodermae*, o muco provém da gelificação da celulose da parte externa da membrana, apresentando, então, uma estrutura estratificada, e não radiada, como nas *Placodermae*, em que representa excreções segregadas através dos numerosos poros acima aludidos (cf. J. SAMPAIO, 1944, pág. 26).

das Desmídias se apresenta incrustada de substâncias minerais: carbonato de cálcio, uma pequena quantidade de sulfato da mesma base e uma diminuta proporção de um resíduo insolúvel, provàvelmente formado de sílica.

Krieger (1937) refere-se detalhadamente — e fornece-nos magníficos desenhos esquemáticos -- à mineralização das Desmídias pelos compostos de ferro. Quanto, pois, ao tema que, aqui, nos propomos desenvolver, os desenhos que este autor apresenta sob as letras B-J (pág. 7) são muito ilucidativos, merecendo-nos, assim, particular referência.

Os autores modernos aceitam, unânimemente, esta incrustação da membrana.

Portanto, quanto às Desmídias, é lógico que, com o decorrer do tempo, atingindo a mineralização um certo incremento, a membrana deixe de dividir-se. E se aquelas substâncias minerais existirem no meio em grande abundância, a incrustação será mais rápida e activa, podendo, mesmo, modificar membranas de células que ainda não atingiram o estado adulto. Em tais circunstâncias, é evidente que essas membranas não podem efectuar as operações que lhes competem na conjugação, que as mais das vezes se dá, como é do conhecimento geral (cf. págs. 42-43), entre células com o hemissoma mais novo imaturo.

Alem disso, a incrustação por mineralização é já bem conhecida em muitas Algas, como, por exemplo, nas *Diatomaceae* (silificação), *Characeae* (calcificação) e certas *Siphonocladales* e *Cyanophyceae* (calcificação).

Em algumas espécies destes grupos, a incrustação pelo carbonato de cálcio chega a ser de tal modo activa que se torna necessário, para o seu estudo ao microscópio, submeter os respectivos espécimes, prèviamente, a um tratamento por um ácido.

A sílica também se encontra nos quistos das Crisomonadineas, nos esqueletos das Silicoflageladas e na membrana das Heteroconteas. O cálcio também se encontra nas Florídeas (*Lithothamium*, *Corallina* e *Liagora*).

A nosso ver, nas Desmídias, a modificação da membrana por mineralização é um facto bem evidente, que nos explica um grande número de problemas da biologia da reprodução e

da multiplicação destas Algas, todos eles de transcendente importância e, até hoje, insolúveis.

Esta mineralização é-nos revelada, pois, pela análise microquímica de cinzas de membranas, e é bem conhecida, em alto grau, em vários grupos de Algas cujos indivíduos vivem em meios onde vivem também as Desmídias, que, no entanto, evitam, sobremodo, as águas com elevada concentração daquelas substâncias minerais. Claro que, nestas pequenas Algas microscópicas, a mineralização não é tão aparente como, por exemplo, nas *Characeae*, em alguns estratos de certas *Cyanophyceae* e nos grandes aglomerados de *Diatomaceae*, onde, dado o grande conjunto de indivíduos, fàcilmente se reconhece logo ao primeiro contacto.

O silício parece não ser necessário às Diatomáceas, porquanto, cultivando-se indivíduos destas plantas num meio rigorosamente privado deste metaloide, eles se desenvolvem bem, sem que, todavia, se forme a carapaça siliciosa que apresentam nos meios naturais. A formação dessa carapaça depende, portanto, de factores externos (cf. DANGEARD, 1933, págs. 86, 387). Certas Diatomáceas planctónicas (por exemplo, *Guinardia* e algumas *Rhizosolenia*) apresentam a membrana muito levemente silificada (DANGEARD, l. c., pág. 86).

A tendência das Algas da água doce para a modificação das suas membranas, quer por mineralização, quer por gelificação, é um facto que, mais ou menos, se observa em quase todos os grupos destas Criptogâmicas.

Como se sabe, e se bem que uma ou outra espécie, como, por exemplo, o *Cosmarium dovrense* Nordst. e o *Oocardium stratum* Nag., prefira as águas com grande quantidade de carbonato de cálcio, as regiões calcárias são muito pobres em espécies de Desmídias. E está hoje perfeitamente provado, e admitido pelos mais consagrados autores, que entre os principais factores determinantes da maior ou menor abundância destas plantas preside a natureza geológica do terreno.

WEST e G. S. WEST afirmam (1904, págs. 14 e 15): «Limestone and chalk districts yield few species, although one or two Desmids, such as *Cosmarium dovrense* and *Oocardium stratum*, have a preference for water saturated with calcium carbonate».

A calcificação prejudica, sèriamente, a vida das Desmídias. E tanto assim é que, como é sabido, estas plantas rareiam nas regiões calcárias e, pelo contrário, abundam nas regiões graníticas, que em regra apresentam uma vegetação desmidiológica rica e variada em formas específicas.

A silificação não afecta as Desmídias, pois, como já dissemos, estas plantas desenvolvem-se bem nos terrenos siliciosos, onde em geral apresentam grande variedade de géneros e espécies. Demais, a percentagem de sílica (?) encontrada na membrana destas Algas é diminuta.

Sabe-se, portanto, que as Desmídias são em geral frequentes nos terrenos arenosos e atolados, estando, além disso, amplamente comprovado que as águas com uma certa acidez (pH = 5-7) são muito favoráveis ao seu desenvolvimento.

Vem a propósito um caso, muito elucidativo, observado no estudo das Desmídias do Norte de Portugal. Nas suas publicações, os naturalistas que actualmente mais se ocupam com esse estudo mostram-se, unânimemente, surpreendidos com o facto de não aparecerem zigósporos nas inúmeras colheitas que, até hoje, se têm efectuado. São vários os naturalistas que têm estudado Desmídias do Norte de Portugal (W. West, G. Sampaio, J. Sampaio, A. Rozeira, J. Alte e G. Guerrero), e muitas são já as localidades e estações exploradas. Apesar disso, até esta data, apenas se registaram 7 casos de observação de zigósporos!

Em 1944 (pág. 476), escrevemos: «Finalmente, observe-se que é também de admirar a extrema escassez de zigósporos, sobretudo se atendermos a que a quase totalidade das colheitas se fez na Primavera, Verão e Outono, mas especialmente no Verão».

A. Rozeira, ao citar o *Closterium idiosporum* W. & G. S. West, var. *punctatum* Krieg. como espécie nova para a flora portuguesa, esclarece (1947, pág. 101): «Foi a primeira vez que encontrámos uma Desmídia em conjugação, embora tenhamos realizado até agora algumas centenas de observações.»

Ùltimamente, o distinto ficólogo espanhol, Prof. P. G. Guerrero, numa das suas valiosas publicações sobre as Algas da Serra do Gerês, escreve (1950, pág. 26): «No ví cigosporas

de Desmidiaceas, lo cual me extraña porque el agua estaba en disminución y muchos de los charcos secos.»

Não temos hoje a menor dúvida de que esta extrema ausência de zigósporos se deve à condição geológica do terreno, ou, antes, à falta de cal. E tanto assim é que F. Lacerda, no Sul do país, onde abundam os calcários, logo no seu primeiro ensaio sobre Desmídias — uma lista de 16 espécies — afirma-nos (1948, pág. 95): «As nossas observações, sobre a frequência da formação de zigotos nas *Desmidiaceae*, não coincidem com as de Sampaio (1944) e Rozeira (1947): um grande número de espécies foi já observado por nós com zigósporos bem formados, e em algumas colheitas a percentagem daqueles é elevadíssima, como por exemplo nos arredores da lagoa da Vela o *Closterium Kutzingii* Bréb.»

Tão flagrante disparidade das observações feitas no Norte e no Sul do país, despertando-nos grande interesse pelo conhecimento das competentes causas, levou-nos a um estudo aturado e cuidadoso, cujos resultados apresentamos neste trabalho.

Nada, todavia, poderá apoiar tanto a nossa tese como as investigações de G. Guerrero ùltimamente feitas na Serra do Gerês. São deveras preciosas, a este respeito, as apreciações e conclusões que encontramos no capítulo «Biologia» com que o ilustre autor espanhol abre o mais recente (1950) dos seus magníficos trabalhos sobre as Algas daquela região.

G. Guerrero principia assim esse capítulo (o grifado é nosso): «La citada sierra, situada en el armazòn granítico de nuestra Peninsula, *constituye una regiòn silícica de gran uniformidad que influye sobre las algas indigenas locales.*»

Mais adiante (pág. 23), o sábio ficólogo diz-nos que, nos mil e quinhentos quilómetros quadrados que percorreu na Serra do Gerês, e em todas as colheitas que estudou, não viu um único exemplar de *Cladophora*, género que aparece nas reprêsas dos rios, rápidos, etc., «con tal que tenga el agua cierta ionicidad calcifila», e que não aparece quando não se dá esta condição. Atribui, justificadamente, a ausência deste género, na região geresiana, à falta de calcário.

Diz (págs. 23-24) que Arguello encontrou abundância de *Cocconeis* e *Cladophora* em reprêsas, etc., dos rios Bernesga e Torio, afluentes do Douro em León, facto que entende dever-se

a estes rios correrem em terrenos que têm grande quantidade de cal entre os seus elementos desagregados.

De entre as várias e bem deduzidas considerações que apresenta, todas elas de grande utilidade debaixo do nosso ponto de vista — aí se salienta a extrema ausência, no Gerês, das algas calcífilas, a par da frequência das calcífobas — cumpre-nos destacar, como de mais evidente importância para a nossa tese, as segintes:

Pág. 23. *No hay caracoles en las aguas de esta sierra. Encuentro « babosas » negras.*

Pág. 24. *El grupo ficológico cumbre en las algas geresianas son las Desmidiaceas y sobre todo las unicelulares... Se las encuentra en todos los sitios (pico de Altar de Cabrões, Borrageira, Malhadoiro, Abrótegas, Albergaria, etc.) y solamente respetan las aguas violentisimas de los despeñaderos y los débiles representantes que aqui se hallan son arrastrados por las aguas* (Micrasterias, *por ejemplo*).

Pág. 26. *No ví cigosporas de Desmidiaceas, lo cual me extraña porque el agua estaba en disminución y muchos de los charcos secos.*

Pág. 28. *Las silicófilas son las dominantes en la Sierra do Gerês — Diatomeas y Desmidiaceas — con algunas Heterocontas* (Tribonema, *por ejemplo*).

Evidentemente que, naquelas paragens, dadas tão magníficas condições para a vegetação das Desmídias, o eminente ficólogo não podia fàcilmente encontrar zigósporos destas plantas, nem aplanósporos. Perante tão benéfica pobreza de calcário, as Desmídias não recorrem à conjugação senão raras vezes, o mesmo fazendo quanto à esporulação, e, visto as restantes condições biológicas locais lhes convirem, multiplicam-se bem.

Nenhuma importância se tem ligado à acção que certas substâncias minerais, modificando a membrana, possam exercer na reprodução e na multiplicação das Desmídias; não obstante, sabe-se, com toda a segurança, que os diferentes processos de reprodução apresentados por estas pequenas algas interveem, dentro de certa ordem, com a diminuição do volume de água do

meio, e, como veremos, relacionam-se, ìntimamente, com a natureza geológica do terreno.

Como se sabe também, as condições de temperatura influem no ritmo da divisão vegetativa, podendo excitá-lo ou retardá-lo. Mas não influem na produção de zigósporos, aplanósporos ou partenósporos. A produção destes elementos reprodutores depende, como vamos demonstrar, da mineralização da membrana.

Além do mais, esta mineralização é muito importante para o nosso estudo presente, pois, como se verificará, e já acima o afirmámos, permite-nos esclarecer problemas muito delicados, até hoje insolúveis.

Nas Desmídias, como se sabe, a divisão vegetativa só se opera em células com os dois hemissomas adultos. Claro que, conforme já esclarecemos (1950, pag. 55), os factores externos podem perturbar, aqui, alguma das respectivas fases, produzindo-se, então, formas aberrantes. São bem conhecidas, pois, inúmeras formas anómalas provocadas pela alteração de operações da divisão celular. Estas aberrações, que se apresentam de várias ordens, são designadas nos trabalhos de teratologia por *anomalias da divisão.* Contudo, segundo Lefevre (1939, págs. 20 e 27-29 e 35), são reversíveis, cessando, claro, as causas que as provocam. Este autor demonstra (l. c., págs. 27--29) que a reversibilidade, conforme os casos considerados, se completa ao cabo de uma a três divisões sucessivas.

Igualmente é do nosso conhecimento (cf. J. Sampaio, 1950, págs. 54-55) que a conjugação se dá apenas entre indivíduos (parece que só irmãos) provenientes da divisão vegetativa e, as mais das vezes, antes do novo hemissoma atingir o estado adulto (maturação). Conforme também já esclarecemos (l. c., págs. 57, 66, 68), o abortamento de uma certa fase da conjugação origina a produção, por cada indivíduo, de um partenósporo ([1]).

([1]) A fase que aborta é, sem dúvida, aquela em que as duas membranas celulares — uma de cada gametângio — têm de dar saída aos respectivos protoplasmas (gâmetas), para que estes possam contactar e fundir-se.

As duas membranas não executam, pois, essa operação, quer dizer, não se gelificam, não separam os respctivos hemissomas, não permitem qualquer

Portanto, e recapitulando, a divisão vegetativa só se opera em indivíduos com ambos os hemissomas maduros, enquanto que a conjugação se dá as mais das vezes entre indivíduos (parece que só irmãos) com um hemissoma maduro e outro imaturo.

Nas Desmídias, como todos sabemos, a desagregação vegetativa opera-se por divisão binária, de modo que, numa célula que tenha passado por este processo de multiplicação, os respectivos hemissomas são, sempre, de idade diferente.

Lògicamente, a conjugação dá-se entre células cujos hemissomas — de cada célula — além de, as mais das vezes, se apresentar, como já dissemos, um maduro e outro imaturo, apresentam-se, ainda, de idade diferente.

De modo algum, pois, a conjugação se opera entre indivíduos directamente provenientes de zigósporos ou aplanósporos.

Por seu lado, a divisão vegetativa, que, verdadeiramente, constitui o processo de multiplicação das Desmídias, tanto se pode operar em células com os dois hemissomas da mesma idade (células directamente provenientes de zigósporos ou de aplanósporos), como em células com os hemissomas de idade diferente (células provenientes de uma divisão vegetativa anterior); mas, neste segundo caso, como esclarecemos atrás, só se operará — ao contrário do que geralmente sucede na conjugação — depois do mais novo hemissoma atingir o estado adulto.

Conforme é do conhecimento geral, os aplanósporos, como os partenósporos, formam-se quando o meio ameaça dessecar [1].

---

rotura, não formam, nem um verdadeiro, nem um falso tubo de copulação.

Em tais condições, os protoplasmas das duas células (gametângios), impossibilitados de contactarem, mas já desintegrados, começam a fabricar uma nova membrana, que se vai desenvolvendo e espessando, acabando por expulsar a primitiva, obrigando-a, por pressão, a dividir-se pela linha dos seus hemissomas.

Depois de formado, o partenósporo conserva, junto de cada dos seus topos ventrais, uma metade da membrana regeitada (fig. 10), semelhantemente ao que acontece com o zigósporo (fig. 9).

[1] *Miss* CARTER (1923, Est. CLXI, figs. 22-25) reproduz óptimos desenhos de fases da formação de aplanósporos observadas na *Hyalotheca dissiliens* Bréb., for. *bidentula* (Nordst.) Boldt. e for. *tridentula* (Nordst.) Boldt.

Esses desenhos encontram-se reproduzidos (Est. XVIII, figs. 64-67) no nosso trabalho «Desmídias Portuguesas» (*Bol. Soc. Brot.*, vol. XVIII, 2.ª série, 1944).

Segundo aquela insigne investigadora, a formação de aplanósporos é,

Nestas Algas, o número de cromossomas é, como se sabe, de 2n, passando para 4n na fusão nuclear, a qual se realiza no zigósporo, quando este está prestes a germinar. A redução cromática opera-se também no zigósporo, durante a germinação.

Na maior parte das espécies de Desmídias, o zigósporo gera apenas dois embriões, tantos como o número de indivíduos que lhe deram origem. Noutras espécies, porém, gera só um. Relativamente, são muito poucas as espécies em que o zigósporo gera quatro embriões, número máximo que pode produzir (1).

---

nessa espécie filamentosa, precedida da dissociação celular, passando-se, acto contínuo, mais ou menos, do modo seguinte: 1.º, as células principiam a aumentar de comprimento, e, em dada altura, os cloroplastídios começam a apresentar indícios de desintegração; 2.º, as células tornam-se tão largas como compridas; 3.º, toda a massa protoplásmica toma, gradualmente, a forma esférica e se cerca de uma membrana espessa, originando, assim, um aplanósporo.

Segundo ainda a referida autora, a forma definitiva do aplanósporo é globular, mas um pouco assimétrica.

Na *Hyalotheca neglecta* Racib., o filamento é parcialmente dissociado, em células individuais, durante a formação dos aplanósporos, adquirindo estes, por fim, uma membrana espessa, amarelada e distintamente pontuada.

Nesta espécie, os aplanósporos, quando maduros, apresentam a forma elíptica, com os polos agudo-arredondados.

(1) Como é sabido, durante a germinação do zigósporo, dão-se, sempre, duas divisões nucleares sucessivas, sendo a primeira, segundo vários autores, a divisão redutora.

Quando se dá a germinação, a membrana externa do zigósporo fende-se e o respectivo conteúdo escapa-se, envolvido pela sua membrana interior e descorada.

Na grande maioria das espécies de Desmídias, ou, antes, na quase totalidade das espécies das *Placodermae* e, ocasionalmente, em algumas espécies do género *Mesotaenium*, o conteúdo do zigósporo, depois de evacuado da membrana externa deste, divide-se em dois indivíduos, cada qual com um cloroplastídio e dois núcleos, dos quais um se dilata enquanto o outro aborta e, gradualmente, desaparece. Porém, casos há, embora raros e como adiante veremos, em que os núcleos são todos aproveitados (algumas espécies das *Sacodermae*) ou apenas se aproveita um deles (*Gonatozygaceae*).

Nas *Sacodermae*, o zigósporo, uma vez liberto do seu invólucro exterior, alarga-se e divide-se por um ou — em casos raros — dois planos perpendiculares ao seu eixo e dispostos, entre si, em ângulo recto. Deste modo, e tendo-se dado as respectivas divisões nucleares, com aproveitamento de dois ou quatro núcleos, duas ou quatro plantas novas são geradas.

As formas do género *Spirotaenia* e, ocasionalmente, algumas formas do

Quanto aos zigósporos duplos, que são muitíssimo raros (cf. J. SAMPAIO, 1950), pouco se conhece da sua germinação. Sabemos, todavia, que apenas dão origem — cada par de zigósporos — a dois indivíduos em *Spirotaenia* e quatro em *Cylindrocystis*.

Atenda-se ainda a que, na conjugação, as células copuladoras (gametângios) desaparecem, apenas deixando, como relíquias, as suas membranas vazias — quando estas não se

---

género *Mesotaenium* produzem dois embriões. As restantes espécies das *Sacodermae* produzem quatro.

Possìvelmente, quando cada um dos dois embriões fica com dois núcleos, um que se dilata e outro que desaparece, o núcleo mantido vai integrando a matéria do núcleo que não persiste, até o assimilar por completo.

Nos casos da produção de quatro indivíduos, segundo P. DANGEARD (1933, pág. 198), depois da fusão dos núcleos, e no momento da germinação, operam-se no zigósporo duas divisões nucleares redutoras. Então, todos os núcleos são utilizados, gerando-se, assim, quatro embriões.

Parece à primeira vista que a produção de quatro embriões constitui a modalidade seguida nas *Sacodermae*; no entanto, essas primeiras impressões estão muito longe da verdade. Se bem que na maioria das formas deste grupo se gerem de facto quatro embriões à volta de quatro núcleos, casos há, como se viu, em que se geram apenas dois, pela degeneração de dois dos quatro núcleos originados. Como já dissemos, ùnicamente dois indivíduos se constituem no género *Spirotaenia* e, ocasionalmente, no género *Mesotaenium*; no género *Cylindrocystis*, porém, os quatro núcleos persistem e são aplicados na formação de outros tantos embriões.

Nas *Gonatozygaceae*, todavia, o zigósporo gera um único indivíduo.

Quanto a esta família, na maior parte dos casos, dão-se duas divisões nucleares sucessivas, com redução cromática. Então, dos quatro núcleos originados, um desenvolve-se, enquanto que, gradualmente, os outros abortam, gerando-se, deste modo, um só embrião.

Quanto aos zigósporos duplos, cremos que quase nada se conhece acerca da sua germinação. Sabemos, entretanto, que ùnicamente dão origem a dois indivíduos em *Spirotaenia* e quatro em *Cylindrocystis*, tal-qualmente os casos, nestes géneros, da produção de um zigósporo.

H. POTTHOFF publicou um trabalho (1928) sobre a germinação do zigósporo, trabalho que apenas conhecemos pela análise que se lhe faz em «Revue Algologique» (IV, 1931-32, pág. 100). Eis, pois, os termos dessa análise, da autoria de P. ALLORGE: «Les trois types de formations du zygote correspondent, d'après l'A., à trois groupes phylogénétiques de Conjuguées: type *Spirotaenia* dans lequel les deux divisions successives du noyau déterminent la formation de 4 noyaux égaux répartis en quatre cellules qui donnent

gelificam ([1]) — pois que os respectivos conteúdos funcionam como gâmetas, fundindo-se, para produzir o zigósporo.

Nas Desmídias, cada esporo é formado pela renovação do conteúdo de uma célula, de modo que cada esporângio contém apenas um desses elementos reprodutores (veja-se a chamada 1 da pág. 43). Portanto, quanto a estas algas, a esporulação, como quase todos os casos de conjugação, não multiplica o indivíduo.

Convém, pois, não nos esquecermos de que, nas Desmídias, o termo «reprodução», como se está a ver, nem sempre implica a ideia de multiplicação. Só a implicará, pois, quando empregue em referência à divisão vegetativa e aos raríssimos casos de conjugação em que o zígósporo produz quatro embriões. Isto — esclareça-se — dá-se também noutros grupos das Algas.

As Desmídias, como todos sabem, possuem três processos de reprodução: *desagregação vegetativa*, *ovulação* e *esporulação*. Estes três processos são interdependentes e solidários na conservação da espécie.

O zigósporo, que é um ovo, e o aplanósporo, que é um

---

chacune un individu; type *Netrium* dans lequel deux noyaux dégénèrent de sorte que deux cellules seulement donnent un individu; enfin, type *Hyalotheca* chez lequel trois noyaux dégénèrent, une seule cellule à noyau fonctionnel donnant un nouvel individu.»

Finalmente, e recapitulando: na reprodução por ovulação, nas Desmídias, produzem-se em geral dois indivíduos, porém, em certos casos, produzem-se quatro, e, noutros, ainda, produz-se apenas um.

São estes os elementos que, a respeito da produção de embriões, pudemos reunir consultando, pacientemente, a bibliografia ao nosso dispor. Apesar de serem muito poucos, julgamo-los, todavia, mais que suficientes para podermos documentar a nossa tese. Conjugados com o facto do ovo se formar à custa do protoplasma das próprias células que copulam, e que deixam de existir, claramente demonstram que o fim deste acto de reprodução sexual não é o de multiplicar o indivíduo. E é isso quanto nos basta para o fim que temos em vista.

A estrutura do invólucro do zigósporo, provido de três membranas sobrepostas, sendo a exterior muito espessa, permite-lhe resistir a certas alterações do meio, e a sua ornamentação de espinhos permite-lhe escapar ao ataque de certos animais microscópicos, muito frequentes nos meios aquáticos onde os zigósporos mais se desenvolvem.

([1]) Veja o quadro que apresentámos no nosso trabalho anterior (1950).

esporo, desempenham, quer um, quer outro, funções de reprodução e de resistência. Todavia — visto produzirem um pequeno número de indivíduos e, sobretudo, os progenitores desaparecerem — não garantem, só por si, a conservação da espécie, função que só a desagregação vegetativa completa.

Note-se que estes conhecimentos, rudimentaríssimos, constituindo, pode dizer-se, o A B C da biologia da reprodução e da multiplicação das Desmídias, são, no entanto, de essencial importância para o estudo de complicados problemas, não só pròpriamente da reprodução e da multiplicação, mas, também, da adaptação e resistência a certas condições do meio, formação de anomalias, etc. Por isso memo, entendemos que nunca será de mais salientá-los aqui.

Por que razão, pois, a célula, tendo operado a divisão vegetativa sem qualquer acidente, abandona, em dada altura, este processo geral de se multiplicar, e envereda pela conjugação, que, comummente, a não multiplica ? Deve-se isso a factores internos ou externos ? Deve-se isso, ainda, a terem-se mudado as condições do meio ? E qual o fim ?

Não temos hoje a menor dúvida de que tal facto se deve, como afirmámos já em trabalho anterior (1950, págs. 60 e 67-68), a condições internas e externas, pois que a membrana, incrustando-se, pouco a pouco, de certas substâncias minerais existentes no meio ambiente (possìvelmente, carbonato ou sulfato de cálcio, ou, ainda, compostos de ferro), impossibilita-se, mais tarde ou mais cedo, de exercer as suas funções na multiplicação do indivíduo, o qual, assim, evoluciona para gametângio, operação que, como veremos, quase sempre realiza antes do seu novo hemissoma atingir o estado adulto.

Os factos demonstram-nos que, em condições normais, este envelhecimento da membrana se opera as mais das vezes muito lentamente, com o decorrer do tempo, podendo, entretanto, apressar-se por acção de condições acidentais.

Se, pois, num determinado meio, por evaporação, o volume de água diminuir para cerca de metade, sem dúvida que, dada, nesse caso, a muito maior concentração daquelas matérias minerais, tal modificação da membrana operar-se-á ràpidamente.

Claro que a resistência à incrustação — ou aos seus efeitos

— varia com as espécies, e mais deve variar ainda, como é lógico, com os géneros.

Portanto, quer sob condições normais, quer sob condições acidentais, tal estado de incapacidade para a divisão vegetativa operar-se-á tanto mais ràpidamente quanto maior for a percentagem daquelas matérias existentes no meio.

Conforme se verifica, *grosso modo*, quer em condições normais, quer em condições acidentais, o máximo de divisões que uma célula pode operar é tanto menor quanto mais elevada for a percentagem daquelas substâncias minerais existente no meio ambiente. Lògicamente, uma célula vegeta mal num meio onde essas substâncias existam em grande quantidade, e vice-versa. Por isso mesmo, e como se sabe, as Desmídias rareiam nas regiões calcárias e, pelo contrário, abundam nas regiões graníticas.

Portanto, a abundância daquelas substâncias minerais abrevia a impossibilidade da célula se multiplicar.

Desde que a quantidade dessas matérias não seja exagerada, o envelhecimento da membrana operar-se-á, como já dissemos, muito lentamente.

Em tais condições do meio e tratando-se, por exemplo, de uma estirpe, as membranas que primeiro se impossibilitam de operar as suas funções na multiplicação são, como é lógico e evidente, as das semicélulas mães resultantes da primeira divisão vegetativa, as quais, ao cabo de várias divisões sucessivas, são as mais antigas de todas que então se originarem. E, assim, consecutivamente, dentro desta ordem cronológica, se irão modificando e recorrendo à conjugação as células existentes num qualquer meio em condições de normalidade.

Referindo-nos aos casos em que a célula evoluciona para gametângio antes do seu novo hemissoma atingir a maturação, dissemos em trabalho anterior (l. c., pág. 60):

«Perante os factos até hoje conhecidos, parece lógico admitir-se que, neste caso, as condições internas não permitem à célula receber a acção do meio senão antes do novo hemissoma atingir a maturação.»

Porém, isto parece não se confirmar, pois, além do mais, é evidente que a semicélula mãe pode envelhecer depois da semicélula filha ter atingido o estado adulto, e é óbvio que, em

tal caso, a célula, impossibilitada de operar a divisão, evolucione para gametângio com os dois hemissomas maduros.

Hoje, quanto a isto, é nossa opinião que as condições internas se comportam conforme a acção do meio, porquanto, consultando-se a bibliografia das Desmídias, fàcilmente se conclui que, segundo essa acção, a célula evoluciona para gametângio com o novo hemissoma menos ou mais desenvolvido.

Conhecem-se casos de conjugação, na mesma espécie, em que o novo hemissoma se apresenta sob vários estados de desenvolvimento, desde o simples gomo à formação quase perfeita ou, mesmo, perfeita.

Consultando-se a bibliografia das Desmídias, encontram-se, figurados, casos de conjugação em que os quatro hemissomas dos copuladores se apresentam iguais ou aproximadamente iguais, sobretudo tratando-se de formas estranguladas (*Cosmarium*, etc.).

Por outro lado, não nos devemos esquecer de que, nas formas não estranguladas (*Closterium*, etc.), a semicélula filha, ainda que madura, é geralmente mais curta que a semicélula mãe, e isto, como se sabe, devido ao modo destas formas operar a divisão vegetativa.

Mencionamos adiante dois elementos reprodutores (um zigósporo e um partenósporo) do *Penium silvae nigrae* Rabanus. Os hemissomas dos gametângios, como se vê nos respectivos desenhos (figs. 9 e 10), apresentam-se quase iguais ou iguais. Não há, nestes dois casos, hemissomas imaturos. Todavia, devemos esclarecer que as células se encontravam sob violentas condições acidentais.

Realmente, as mais das vezes, o gametângio apresenta a semicélula filha imatura, pois, como é óbvio, há muito mais possibilidade da modificação da semicélula mãe se completar durante o crescimento daquele hemissoma (hemissoma filho) do que, precisamente, quando ele atinge o estado adulto e a célula, portanto, não tardará a entrar em nova divisão vegetativa.

Deste modo, as células com a semicélula mãe envelhecida evolucionam para gametângios, e produzem zigósporos; as células com as duas semicélulas (mãe e filha) envelhecidas simultâneamente evolucionam para esporângios, e produzem aplanósporos; as células com as duas semicélulas envelhecidas

não simultâneamente, isto é, com a semicélula mãe envelhecida anteriormente à semicélula filha, evolucionam para gametângios e, depois, por abortamento da copulação ([1]), produzem partenósporos.

Se a mineralização afectar duas células acabadas de sair da divisão vegetativa e lhes envelhecer a membrana do hemissoma adulto, evidentemente que essas células evolucionarão para gametângios com o novo hemissoma em princípio de

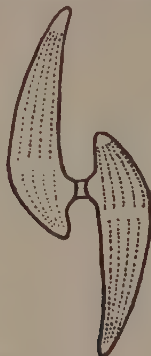


Fig. A. — Desenho, esquemático, da conjugação de duas células do *Closterium Ehrenbergii* Menegh. com os novos hemissomas em princípio de desenvolvimento (segundo KRIEGER). As células evolucionaram para gametângios, e entraram em copulação, pouco depois de saídas da divisão vegetativa.

desenvolvimento, dando-nos, depois de acasaladas, a impressão de se terem conjugado dois hemissomas (Fig. A). Se, porém, a mineralização envelhecer apenas uma daquelas células, proveniente, então, da semicélula mãe, essa célula evolucionará para gametângio, continuando a outra, proveniente, evidentemente, da semicélula filha, apta a desenvolver-se e, atingindo a maturação, a dividir-se.

Resta-nos saber como reagirá a célula quando uma grave mineralização, normal ou acidental, a surpreender na primeira fase da divisão vegetativa e lhe envelhecer a membrana da semicélula mãe logo após a divisão do núcleo. Produzir-se-á,

---

([1]) Veja a chamada 1 da página 42 e a página 82.

neste caso, um gametângio com dois gâmetas? Porventura, encontrar-se-á, aqui, a explicação do curioso fenómeno dos zigósporos duplos? Do mesmo modo nos faltam conhecimentos para podermos explicar a reacção da célula quando uma violenta mineralização acidental lhe mineralize as duas semicélulas também logo após a divisão nuclear. Produzir-se-ão dois aplanósporos, um por cada hemissoma? Ou, visto a formação dos gomos se dar imediatamente à divisão do núcleo, operar-se-á a separação celular? Ou, antes, relacionar-se-ão estes casos com a matéria adiante tratada ao referirmo-nos aos zigósporos duplos (veja as págs. 69-70)?

Devemos, portanto, ter sempre em vista a intensidade dos agentes da mineralização — que podem envelhecer os dois hemissomas ou apenas um — e a desigual idade de cada uma das semicélulas (mãe e filha) do indivíduo. Os problemas adiante tratados desenvolvem-se, todos, em volta destes importantes factores.

Se a célula, conforme a maioria dos casos, evolucionar para gametângio com o novo hemissoma imaturo, claro que o gametângio corre muito menor risco de envelhecer do que se a célula evolucionar com esse hemissoma já maduro. Sem dúvida que, naquelas condições, o novo hemissoma oferece uma resistência à mineralização que não poderá oferecer depois de adulto, estado este em que, evidentemente, a respectiva membrana — embora ainda não impossibilitada de exercer as competentes funções — se encontra já mais ou menos incrustada de matérias minerais.

A nosso ver, o facto da célula, conforme é vulgar, evolucionar para gametângio com o novo hemissoma imaturo permite-lhe subtrair a conjugação à influência nefasta de um possível envelhecimento daquele hemissoma, envelhecimento que, se não fosse assim, a acção do meio, em certos casos, provocaria de um momento para outro.

Quanto mais novo for o hemissoma filho, tanto mais possibilidade terá o gametângio de resistir aos agentes mineralizadores. É por isso mesmo que a produção de partenósporos — outro tanto sucede com a produção de aplanósporos — só se tem observado, supomos nós, em indivíduos adultos ou quase adultos.

Portanto, as mais das vezes, a célula evoluciona para gametângio numa das fases da divisão vegetativa (crescimento do novo hemissoma) e, deste modo, teremos de modificar aquele princípio que nos diz que o abortamento de qualquer das fases da divisão produz uma anomalia da forma. E teremos então: O abortamento de uma fase da divisão produz uma anomalia da forma desde que a membrana celular não tenha envelhecido. E, ainda: O abortamento da divisão por envelhecimento da membrana de uma semicélula (semicélula mãe) origina a evolução para gametângio e, operando-se a conjugação, produzir-se-á um zigósporo; se, porém, a membrana da semicélula filha envelhecer depois dos indivíduos evolucionarem para gametângios, de modo a esses indivíduos não poderem copular, produzir-se-ão partenósporos; o abortamento da divisão por envelhecimento, simultâneo, da membrana das duas semicélulas (mãe e filha) origina a evolução para esporângio, produzindo-se aplanósporos.

O estado de desenvolvimento da nova semicélula de um gametângio jamais é fixo para cada espécie, pois o envelhecimento, por mineralização, da semicélula mãe não se relaciona apenas com a idade desta semicélula, mas, também, e sobretudo, com a acção do meio. Esta, conforme a sua intensidade, pode determinar que a célula evolucione para gametângio com o seu novo hemissoma menos ou mais desenvolvido.

De resto, isto está em absoluta analogia com os raros casos em que o envelhecimento da membrana não surpreende a célula em estado de divisão, mas, antes, se dá, normal ou acidentalmente, fora deste acto de multiplicação, isto é, quando a célula se encontra em estado adulto e não iniciou ainda aquela operação. Nestes casos, como se viu já, a célula evoluciona para gametângio quando apresenta um só hemissoma envelhecido (casos normais e acidentais), evolucionando para esporângio se o envelhecimento se estender aos dois hemissomas (casos acidentais).

Em trabalho nosso — recentemente publicado — baseados em vária argumentação, entre mais, concluimos (1950, págs. 67-68):

« Parece que os factos confirmam, e é isso nosso ponto de fé, que as células só se encarreiram para a conjugação quan-

do, por quaisquer circunstâncias, talvez por um conjunto de condições internas e externas, mas mais internas, não podem operar a desagregação vegetativa, que é, como se sabe, o processo usual de reprodução das Desmídias. O mesmo se deve dar quanto à reprodução por aplanósporos.

« A acção dos factores externos pode precipitar qualquer das fases da divisão vegetativa ou da conjugação, pode excitar ou retardar estes processos de reprodução, a ponto, mesmo, de os evitar em absoluto; porém, o que não pode é alterar-lhes as respectivas operações, ou fases, sem evitar que eles prossigam.

« O abortamento da conjugação origina a produção de partenósporos; o abortamento de qualquer das fases da divisão vegetativa origina a produção de uma anomalia da forma».

Cremos, portanto, conforme os argumentos acima apresentados, que a conjugação intervém quando a membrana da semicélula mãe, devido a uma intensa mineralização, quer normal, quer acidental, deixa de exercer as suas funções na divisão vegetativa. E factos análogos se devem passar quanto à produção de partenósporos e de aplanósporos em relação com a conjugação e o envelhecimento da semicélula filha (1).

É há muito nosso modo de ver que, nas Desmídias, os zigósporos rareiam extremamente nos grandes meios aquáticos permanentes e, pelo contrário, são mais frequentes nos pequenos meios aquáticos temporários, que dessecam na época da estiagem. Além disso, cremos também que a produção destas células reprodutoras é particularmente activa quando o meio deixa de receber água (2). Ultrapassado, porém, um certo

---

(1) Como se sabe, os partenósporos provêm do abortamento de uma certa fase da conjugação (veja a chamada 1 da pág. 42).

(2) Parece que G. GUERRERO (1950, pág. 26) é da nossa opinião, pois, como já se disse, escreve (o grifado é nosso): «No ví cigosporas de Desmidiaceas, lo cual me extraña porque *el agua estaba en disminución y muchos de los charcos secos.*

Como se sabe, a conjugação é frequente nas espécies de *Cylindrocystis* e *Mesotaenium*, as quais perferem geralmente os meios com pequeno volume de água, ou, simplesmente, húmidos. Muito expostas às graves consequências da dessecação e, portanto, da mineralização, essas espécies copulam amiudadas vezes.

limite, ou, melhor, quando o meio esteja prestes a secar, dar-se-á, então, a produção de partenósporos e aplanósporos [1].

Em Outubro de 1936, herborizando na freguesia de Santo Estevão da Facha, do concelho de Ponte de Lima, recolhemos, sobre os musgos dum muro capeado de caliça, num lugar húmido, uma grande quantidade de um estrato mucilaginoso e esverdeado, que, examinado ao microscópio, apresentava, associadas, diversas algas unicelulares, entre as quais predominava, abundantemente, o *Penium silvae nigrae* Rabanus (c. f. J. SAMPAIO, 1949, págs. 105-110).

Pudemos então observar, quanto a esta espécie, uma elevadíssima quantidade de anomalias da divisão (figs. 2-8), alguns zigósporos (fig. 9) e, ainda, alguns partenósporos, elementos reprodutores estes que, como é sabido, resultam do abortamento da conjugação (fig. 10).

Sem dúvida que esta notável quantidade de anomalias traduz uma grande dificuldade — se não impossibilidade — para a planta em operar, naquele meio e naquela altura, a divisão vegetativa. Cremos possível que, então, conforme o exposto acima, tenha intervido a conjugação e, mais tarde, na iminência da dessecação do estrato, interviesse, ainda, a produção de partenósporos.

Constituem estes factos, pois, mais uma base de explicação a juntar àquelas que, como já dissemos, apresentámos nesse nosso trabalho há pouco publicado (1950, págs. 60-62).

Nas Desmídias, os partenósporos e os aplanósporos apenas são conhecidos num limitadíssimo número de espécies, e, mesmo assim, só se têm observado em casos muito raros (cf. J. SAMPAIO, 1944, págs. 77-82); não obstante — pelo menos teòricamente — todas as espécies são susceptíveis de os produzir.

Os partenósporos do *Penium silvae nigrae* Rabanus, agora figurados pela primeira vez, constituem novidade para a Ciência; e é esta, também, a primeira vez que se citam partenósporos numa Desmídia da flora portuguesa.

---

[1] É sabido que os partenósporos e os aplanósporos se desenvolvem quando o meio ameaça secar.

Quando num meio, por evaporação, se reduzir o seu volume de água a ponto de aumentar consideràvelmente a concentração de alguma ou algumas das substâncias minerais atrás referidas

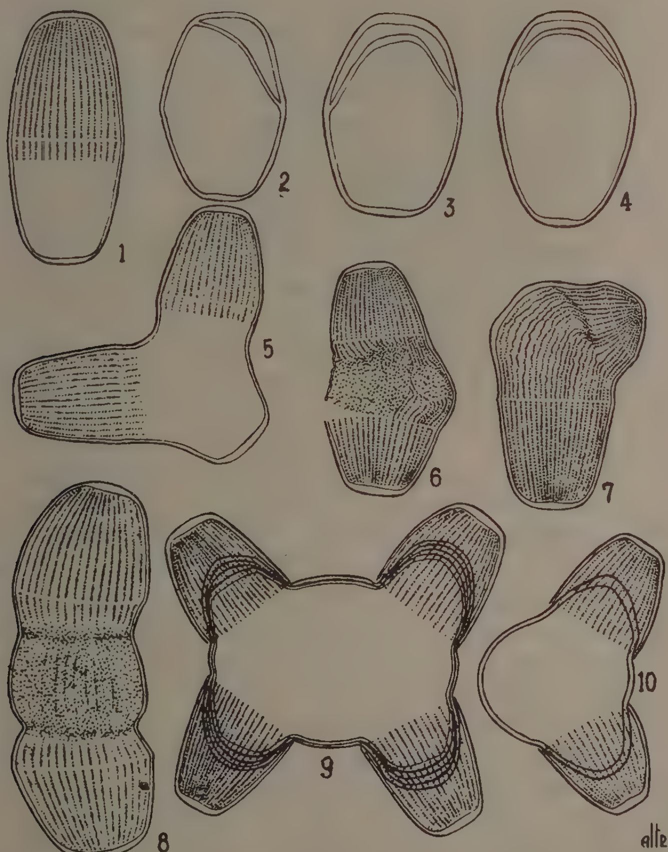


Fig. 1-10. — *Penium silvae nigrae* Rabanus. — 1 Membrana de uma célula normal. — 2-8 Anomalias da divisão vegetativa. — 9 Zigósporo. — 10 Partenósporo.

(condições acidentais), claro que o ritmo de mineralização das membranas se acelerará e, por consequência, a incapacidade para a divisão vegetativa manifestar-se-á, quase ao mesmo tempo, na semicélula mãe de cada um dos indivíduos das primeiras gerações, ùnicamente continuando com aptidão para se

dividirem os indivíduos mais recentemente formados, isto é, os que têm menos tempo de acção do meio e cuja membrana das semicélulas mães, quando o meio foi alterado, apenas apresentava muito ligeiros vestígios de mineralização. Geralmente, nos meios nestas condições, aparecem algumas anomalias, que outros factos, muito diferentes e que adiante veremos, determinam.

Claro que, geralmente, num meio natural, existem estirpes de várias idades, e de várias formas específicas. Nós estamos, sòmente, a apresentar exemplos do que possa passar-se com as células produzidas por uma única dessas estirpes ([1]).

Então, e como dissemos já, os indivíduos cuja semicélula mãe envelheceu, e que, portanto, não podem dividir-se, evolucionam para gametângios, conjugam-se par a par e produzem zigósporos.

Suponha-se, porém, que as condições acidentais não cessam e que, pelo contrário, o volume de água continua a diminuir ainda mais e o meio chega a termos de entrar, depressa, em dessecação.

Note-se que, ao piorarem as condições do meio, as células das gerações mais recentes, ainda com a semicélula mãe não envelhecida e, portanto, com capacidade para iniciar a divisão, como vimos já, produzem em geral anomalias, porque, dada a intervenção de certos factores, que então se desenvolvem em grande escala (e que estudaremos adiante), a divisão aborta numa das suas fases. Consequentemente, o número de anomalias, de várias ordens, aumenta sobremodo.

O meio, em dada altura, ameaça dessecar ([2]).

Em tais emergências, é evidente que todas as membranas — das semicélulas mães e filhas — têm de ser altamente afectadas pela mineralização, que agora é muitíssimo mais activa e

---

([1]) Entendemos por «tronco mãe» ou «estirpe» a célula directamente proveniente de um zigósporo. Assim, são da mesma estirpe todas as células que dessa descenderem através da multiplicação vegetativa, as quais, portanto, possuem as mesmas condições hereditárias.

Os desenhos apresentados neste trabalho são do punho do Sr. Dr. JORGE ALBERTO MARTINS D'ALTE, ilustre Assistente da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. As figs. 1-10 foram obtidas directamente do natural. A fig. A foi obtida por decalque.

([2]) Veja, na pág. 78-79, um exemplo do que se pode passar num meio em iminência de dessecação.

rápida. A divisão vegetativa pára por completo e, lògicamente, não se formando mais indivíduos com os dois hemissomas de idade diferente, jamais se pode efectuar a conjugação. É nesta altura, acentue-se, que intervém a esporulação. As células das gerações mais antigas, que tinham já evolucionado para gametângios e se acasalaram (permita-se-nos este termo), agora com o seu novo hemissoma envelhecido também, não chegam a realizar a copulação, que, abortando — porque a membrana das duas semicélulas, mãe e filha, envelhecida, não executa as competentes funções, isto é, não dá saída aos gâmetas, impossibilitando-os, assim, de contactarem e se fundirem ([1]) — origina a formação de dois partenósporos, um por cada gametângio (fig. 10). As células das gerações intermédias, com o hemissoma mais novo maduro, mas envelhecido bruscamente, impossibilitadas, portanto, de operar, quer a divisão vegetativa, quer a conjugação, evolucionam para esporângios, e produzem aplanósporos. As células das gerações mais recentes ou produzem partenósporos e aplanósporos ou, conforme expusemos acima, influenciadas por certos factores, que adiante referimos, decaiem em anomalias. Estas, dado, agora, o agravamento das condições do meio, envelhecidas também, perdem, certamente, a faculdade de reversibilidade.

Como vimos, as primeiras células que se impossibilitaram de operar a divisão evolucionaram para gametângios e, realizando a copulação, produziram zigósporos. Piorando, contudo, as condições do meio, as células que ainda não haviam envelhecido e que, portanto, puderam entrar em divisão vegetativa, produziram anomalias de várias ordens; as que haviam evolucionado para gametângios, mas que não chegaram a copular, produziram partenósporos; as que, finalmente, não poderam, nem entrar em divisão, nem evolucionar para gametângios, evolucionaram para esporângios, e produziram aplanósporos.

Aparte a formação de aplanósporos, que não pudemos observar, deve ser isto, pouco mais ou menos, o que se passou com as células daquele estrato a que atrás nos referimos.

Portanto, quando o envelhecimento se der só na semicé-

([1]) É muito importante, a este respeito, a nota ao fim da pág. 42 e a matéria da pág. 82.

lula mãe (casos normais e acidentais), o indivíduo, impossibilitado, então, de dividir-se, evolucionará para gametângio, acasalando-se. Se, depois, a acção do meio não envelhecer também a outra semicélula (semicélula filha), os dois indivíduos acasalados, efectuando a copulação, produzirão um zigósporo (casos normais e acidentais). Se, pelo contrário, a acção do meio envelhecer essa semicélula (casos acidentais), cada desses dois indivíduos acasalados, então impossibilitado de copular, produzirá um partenósporo. Quando, porém, brusca e simultâneamente, envelhecerem as duas semicélulas (casos acidentais), o indivíduo evolucionará para esporângio, produzindo, portanto, um aplanósporo.

Mais adiante, veremos, com detalhes, o que continua a passar-se num meio como o que acabamos de mencionar, isto é, num meio sob violentas condições de anormalidade.

Como vimos, nas Desmídias, o envelhecimento celular por mineralização pode dar-se numa (casos normais e acidentais) ou nas duas semicélulas (casos acidentais).

Portanto, e recapitulando, a conjugação intervém quando a célula, com a membrana da sua semicélula mãe envelhecida — quer por acção normal, quer por acção acidental — perde a faculdade de dividir-se, intervindo, por sua vez, a esporulação quando, progredindo as condições de mineralização, a célula, com os seus dois hemissomas incrustados por substâncias minerais, perde a faculdade de operar ambos aqueles processos de se reproduzir (divisão e conjugação), colocando em risco, consequentemente, a conservação da espécie.

Com base em vários argumentos, dissemos em trabalho anterior (loc. cit., pág. 60), e mantemo-lo aqui: «Ora, temos evidentemente de admitir que existe também um máximo, para cada espécie, quanto ao número de divisões operadas pela célula. E é lógico, portanto, que a célula, depois de atingir este máximo, não deixe de reproduzir-se e, por consequência, encarreire pela conjugação».

E, mais adiante acentuamos, (pág. 67): «Temos, evidentemente, de admitir que existe também um máximo, para cada espécie, quanto ao número de divisões operadas pela célula».

Não nos resta hoje a menor dúvida de que esse máximo

é estabelecido pelo estado de envelhecimento, por mineralização, da membrana da semicélula mãe.

No primeiro exemplo atrás apontado, isto é, no caso em que a célula, devido a uma mineralização normal, exercida na membrana da semicélula mãe, compromete a sua capacidade de dividir-se, é a conjugação, portanto, que vem remediar tão crítica emergência.

Por mais paradoxal que isso à primeira vista nos possa parecer, dá-se aqui, como veremos, uma conjugação que, atendendo-se ao fim atingido, não representa mais do que um remoçamento celular, e nunca uma multiplicação de indivíduos.

De resto — acentue-se — o dizermos que, nas Desmídias, o fim da conjugação corresponde a um rejuvenescimento celular não deixa transparecer qualquer originalidade nossa. P. Dangeard, no seu «Traité d'Algologie» (1933), inicia assim o capítulo que dedica à reprodução das Algas (pág. 16): «Le terme de reproduction s'applique à des phénomènes fort différents; les uns servant à la multiplication des individus dans les périodes favorables, les autres assurant la conservation de l'espèce au moment où les conditions deviennent mauvaises, les autres produisant une rénovation de la cellule, une sorte de rejeunissement qui intervient dans certaines conditions et qui est réalisé surtout par la fusion nucléaire (reproduction sexuée)».

São isto princípios, fundados na observação, hoje aceites por todos os algologistas, que os conhecem perfeitamente. Portanto, estas últimas linhas não as destinamos àqueles investigadores, mas, simplesmente, às pessoas menos versadas nos complicados problemas da biologia da reprodução e da multiplicação das Algas.

A conjugação vem pôr termo, pois, a dois indivíduos que, num meio normal, se impossibilitaram de dividir-se, substituindo--os, segundo as espécies de que se trate, por um, dois, ou, raríssimas vezes, quatro indivíduos novos, aptos o iniciar uma nova série de divisões vegetativas.

Consequentemente, aqui, a conjugação desempenha funções, de defesa, regeneradoras da divisão vegetativa, e jamais de multiplicação do indivíduo.

Neste caso, portanto, a conjugação é que permite que a divisão vegetativa — interrompida, aqui, por efeito de agentes

normais — continue a sua acção, que é, verdadeiramente, a que multiplica a célula e, por isso, desde que possa efectuar-se regularmente, como acontece nos meios siliciosos de grande uniformidade, garante, só por si, a conservação da espécie, não sendo necessária — e também não é possível — a frequente intervenção da conjugação, nem a da esporulação.

Demais, devemos considerar que na divisão binária não se dá a renovação da membrana das semicélulas mães, e que, como vimos já, este facto, bem conhecido, da conjugação se operar apenas entre células provenientes daquele processo de multiplicação (divisão binária) e em geral com o hemissoma mais novo *imaturo*, e jamais entre células provenientes de zigósporos, partenósporos ou aplanósporos ([1]), as quais apresentam a membrana *nova* e da *mesma* idade nas *duas* semicélulas, é, sem dúvida, muito sintomático. Na presente ordem de estudos, estes factos só não despertarão a argúcia a espíritos de todo despreocupados.

Nunca nos devemos esquecer — e queremos frisar bem este ponto — de que, quanto às *Placodermae*, se trata de células com os dois hemissomas de idade diferente, e que, em referência a uma dada estirpe, quanto mais divisões se operarem tanto mais essa desigualdade aumentará. Considere-se, por exemplo, a diferença de idade dos dois hemissomas de uma célula ao fim de 9 ou 10 divisões! E, em presença desse facto, é ou não lógico e intuitivo que, num meio normal, o envelhecimento, por mineralização, se dê num só hemissoma, evolucionando a célula, então, para gametângio? Depois da semicélula intensamente mineralizada, a respectiva «camada geradora» (veja a chamada 1 da pág. 35) não funcionará, de modo que essa semicélula jámais poderá formar o gomo que, crescendo, daria um novo hemissoma. Então, a célula evolucionará para gametângio, passando as novas funções da membrana (formação do tubo de copulação, etc.) a ser executadas pela «camada geradora» pertencente à semicélula filha. Se esta semicélula

---

([1]) Quanto às Desmídias, os partenósporos e os aplanósporos, como sabemos (veja as chamadas 1 das págs. 42 e 43), produzem-se por renovação. A nosso ver, é por isso mesmo que os indivíduos directamente provenientes destes elementos reprodutores jamais se conjugam, pois possuem membrana nova, nas duas semicélulas.

envelhecer antes da evolução para gametângio, evidentemente que lhe acontecerá o mesmo que aconteceu à semicélula mãe e, então, a célula evolucionará para esporângio, e se ela envelhecer depois daquela evolução mas antes de se operar a copulação, dar-se-á a produção de partenósporos.

Admita-se, porém, que a conjugação ou a esporulação não intervieram.

Sem dúvida que, em tal caso, os respectivos indivíduos, impossibilitados de dividir-se, interromperiam, aí, o seu ciclo evolutivo, não lhes restando mais que a morte pura e simples, morte essa a que, evidentemente, teríamos de ligar a ideia de cadáver, pois o desaparecimento desses indivíduos não se faria seguir da formação de novos seres para os quais passasse a substância dos seus directos antecessores — e esta morte, como sabemos, não existe nas Desmídias, nem em muitos outros organismos inferiores.

Porém, os factos não se passam assim. Os dois indivíduos, evolucionando para gametângios e conjugando-se, desaparecem de facto, mas, ao contrário da comparação que acabamos de estabelecer, este desaparecimento — que exitamos de classificar de *morte* — de modo algum implica a ideia de cadáver, pois a totalidade da matéria viva ([1]) pertencente aos progenitores continua-se no ovo, para se continuar, mais tarde, nos embriões, isto é, nos novos indivíduos formados. Aqui, apenas nos ficam, como meras relíquias, duas membranas vazias — quando não desaparecem, por gelificação — que representam toda a matéria dos indivíduos copuladores não utilizada na constituição do ovo, o qual, na grande maioria dos casos e como vimos já, gera os mesmos dois indivíduos que lhe deram origem.

Verifica-se, pois, nesta conjugação, a imortalização do protoplasma e o abandono das membranas dos dois copuladores, e jamais a multiplicação de indivíduos. Não vemos, no fim que atinge, senão os efeitos de uma renovação celular, aliás, indispensáveis para o prosseguimento da divisão vegetativa, única operação que multiplica o indivíduo.

Quanto ao segundo exemplo que tínhamos apresentado,

([1]) Apesar que certos autores, entre os quais figuramos nós, consideram, na membrana, uma camada, interna, viva (veja a chamada 1 da pág. 35).

ou, antes, quanto ao caso em que a célula, devido a uma brusca mineralização acarretada pela grande diminuição de água do meio ambiente (condições anormais), perde a faculdade de operar a divisão vegetativa, é, ainda, a conjugação que, actuando em grande escala, vem suprir todas essas deficiências.

Principiaremos por observar que os factos se passam aqui quase do mesmo modo que no caso anterior. A principal diferença a registar está, pois, na mineralização ser, agora, acidental e mais rápida e activa, e não, como no caso já tratado, normal e operada lentamente.

Aqui, como no caso anterior, a conjugação elemina dois indivíduos que uma modificação da membrana da semicélula mãe impossibilitou de se dividirem, para os substituir, conforme as espécies de que se trate, por um, dois, ou, raríssimas vezes, quatro indivíduos novos, aptos a iniciar a divisão vegetativa.

Conforme se sabe, o zigósporo só germina depois de um prolongado período de repouso, variável segundo a acção do meio e as espécies, isto é, variável segundo os factores externos e os internos (cf. J. Sampaio, 1944, págs. 85-86). Demais, o desenvolvimento da sua ornamentação leva muitos dias a completar-se (1). E as anomalias, como já vimos atrás (pág. 42), e segundo Lefevre (l. c., págs. 20 e 27-29 e 35), são reversíveis desde que cessem as causas que as provocaram, readquirindo as células, ao cabo de uma a três divisões sucessivas, a sua forma típica. Note-se, ainda, que os indivíduos novos provenientes da conjugação também tomam em pouco tempo a forma e as dimensões características dos seus progenitores, isto é, da espécie (cf. J. Sampaio, 1944, pág. 87) (2).

Deste modo, recuperando o meio as suas condições habituais, as células anómalas iniciarão as respectivas operações de reversibilidade, e os zigósporos, então já maduros e aptos a germinar, produzirão, por sua vez, os competentes embriões, que, quando as células anómalas tiverem readquirido a sua

---

(1) West & G. S. West, 1904, pág. 11; J. Sampaio, 1944, pág. 85.

(2) Exceptuando as ornamentações da membrana, que só reaparecem nos indivíduos provenientes da primeira divisão (cf. J. Sampaio, 1944, pág. 87). Até neste facto, que também constitui um ponto importante, que podíamos desenvolver a favor da nossa tese, continua em causa a modificação da membrana.

forma típica, já terão iniciado a respectiva série de divisões vegetativas. Mas, ainda que as condições normais não voltem tão cedo e, antes, tal estado de anormalidade estacione por largo tempo, os zigósporos poderão germinar e os indivíduos novos multiplicar-se-ão até atingir o seu máximo de divisões (se não decairem em anomalias), pois que, para as Desmídias, este meio, apesar das suas actuais condições biológicas serem más, não é impróprio.

Como se vê, a conjugação actuou, aqui, numa altura em que as condições acidentais determinaram que as células das primeiras gerações — evolucionadas para gametângios — perdessem a faculdade, por envelhecimento das respectivas semicélulas mães, de operar a divisão binária.

Como no caso anterior, a conjugação não se apresenta aqui com funções de multiplicação do indivíduo, mas sim com funções de regeneração da multiplicação vegetativa.

Estudemos agora, ainda que de relance, o terceiro exemplo citado atrás, isto é, aquele em que o meio não retrocede para as suas condições anteriores, para a normalidade, mas, pelo contrário, continuando, cada vez mais, a diminuir-lhe o volume de água, atinge o estado de dessecação absoluta.

As violentas condições advindas a este meio, anteriormente já muito alterado, não só impossibilitam todas as células de executar a divisão binária, como também as impossibilitam de executar a conjugação. Esta, abortando — quando as condições acidentais se agravaram existiam células evolucionadas para gametângios — produz, conforme se sabe, partenósporos (veja a chamada 1 da pág. 42 e as págs. 52-58 e 82).

Em tais emergências, portanto, existem, neste meio: anomalias, zigósporos (originados quer por condições normais, quer por condições acidentais), partenósporos e aplanósporos.

Dentro das actuais condições, já nem sequer o início da conjugação é possível. As células já não se acasalam (permita-se-nos este termo), porque, como vimos atrás, a divisão parou por completo e, portanto, não se formam indivíduos com os dois hemissomas de idade diferente, capazes de evolucionar para gametângios. O meio está agora prestes a entrar em dessecação e, assim, a célula, com os seus dois hemissomas envelhecidos, tem, nesta altura, de seguir o seu modo de defesa

apropriado, que consiste em produzir aplanósporos (veja a chamada 1 da pág. 43).

Finalmente, o meio extingue-se, isto é, desseca em absoluto.

Decorrido um prazo de dessecação mais ou menos longo, depois de findar o estio, e vindas as primeiras chuvas, o meio readquire as suas anteriores condições de vida. Os zigósporos, os partenósporos e os aplanósporos, em presença de um ambiente favorável à sua germinação, produzem os competentes indivíduos, que, tornando-se adultos, logo entram em divisão vegetativa.

G. Couch e E. Rice (1948) citam um caso de dois filamentos de Desmídias (*Desmidium Grevillii* De Bary) se aproximarem e as respectivas células produzirem: umas zigósporos, outras partenósporos e outras, ainda, aplanósporos.

Claro que as células que compõem cada um destes filamentos não são todas da mesma idade (foram produzidas por várias divisões vegetativas), de modo que a mineralização também não é igual em todas elas.

O facto dos filamentos apresentarem uma grande quantidade de zigósporos, partenósporos e aplanósporos prova, evidentemente, que interveio aqui uma acção acidental muito grave para as condições de vegetação daquelas células.

Os indivíduos das primeiras gerações, com a semicélula mãe envelhecida, evolucionam para gametângios, conjugam-se e produzem, portanto, zigósporos. Mantêm-se, entretanto, em condições de se dividir todos os restantes indivíduos. Porém, o volume de água continua a diminuir e, então, os indivíduos das gerações intermédias, envelhecendo-lhes a membrana da semicélula mãe, evolucionam para gametângios; mas as condições externas continuam a agravar-se, de tal modo que o meio chega depressa à iminência de entrar em dessecação. Em tais circunstâncias, esses indivíduos, que haviam evolucionado para gametângios, com o seu hemissoma filho envelhecido também, e já acasalados, não chegam a copular, porque as respectivas membranas não executam as competentes funções e, consequentemente, impossibilitando os gâmetas de contactarem e se fundirem, provocam, assim, a formação de partenósporos. Os indivíduos das gerações mais recentes, com os seus dois hemis-

somas brusca e simultâneamente envelhecidos, evolucionam directamente para esporângios, produzindo aplanósporos.

E assim se explica, aplicando-se-lhe o nosso modo de ver, este interessante caso, até hoje insolúvel e que, parecendo muito esquisito e confuso, é, afinal, sobremodo simples e claro.

Deste modo, vimos já como reage a célula quando, em condições acidentais, uma mineralização mais ou menos brusca a surpreende e lhe envelhece, simultâneamente ou não simultâneamente, os seus dois hemissomas, quer os apresente ambos maduros, quer os apresente um maduro e outro ainda um tanto imaturo. E já tínhamos visto atrás como reage também quando a mineralização, quer em condições normais, quer em condições anormais, lhe envelhece apenas um hemissoma, verificando-se que, então, o hemissoma envelhecido tem que ser, sempre, o mais antigo, podendo, ainda neste caso, o hemissoma novo apresentar-se sob qualquer estado de desenvolvimento.

Vimos, portanto, como, segundo certas condições, se produzem zigósporos, partenósporos e aplanósporos.

Resta-nos ver, porém, como se produzem os zigósporos duplos.

Note-se que, para melhor compreensão do modo como concebemos os problemas agora suscitados, convém conhecer as nossas considerações, em trabalho anterior (1950, págs. 46-50 e 55-70), sobre zigósporos simples, falsos zigósporos duplos e zigósporos duplos.

A produção de zigósporos duplos, quer falsos, quer verdadeiros, até hoje cheia de enígmas, explica-se, perfeitamente, admitindo a modificação da membrana.

Na produção de falsos zigósporos duplos, não se trata, a nosso ver, senão de um envelhecimento, acidental, da membrana das semicélulas mães de quatro indivíduos provenientes de duas divisões vegetativas consecutivas, os quais, em tais circunstâncias, cessando de multiplicar-se, evolucionam para gametângios, conjugam-se dois a dois e produzem, cada par, um zigósporo (cf. J. Sampaio, l. c., págs. 46-50).

Quanto aos casos em que se produzem verdadeiros zigósporos duplos, cumpre-nos acentuar — e já isso esclarecemos em trabalho anterior (loc. cit., págs. 59, 63, 65, 67) — que, pelo menos dentro das *Placodermae*, se trata de um processo de

conjugação *próprio* e *único* de certas espécies, muito poucas, que *não produzem zigósporos simples.*

Conforme já expusemos, a célula, quando a membrana da sua semicélula mãe envelhece por mineralização, perde a faculdade de se multiplicar e evoluciona, então, para gametângio.

Já dissemos também que a resistência à mineralização — ou aos seus efeitos — varia com as espécies. E também já sabemos que as condições internas variam dentro desta mesma ordem (vide J. Sampaio, l. c., págs. 63, 65).

Acentue-se, como facto, aqui, de essencial importância, que, na produção de verdadeiros zigósporos duplos, a célula, com a membrana da sua semicélula mãe envelhecida por mineralização, só evoluciona para gametângio depois de operada a divisão do respectivo energídio, e não, como nos casos vulgares (produção de falsos zigósporos duplos e zigósporos simples), sem que essa divisão se tenha efectuado (cf. J. Sampaio, l. c., págs. 46-50 e 56-67) ([1]).

Produzem-se, então, zigósporos duplos, e isto porque, como já expusemos (l. c., págs. 48-50), os dois energídios de cada célula (gametângio), um por cada semicélula, passam a funcionar como dois gâmetas distintos.

Eis, aqui, um exemplo frisante de que a conjugação tem por fim substituir a membrana dos copuladores, a qual, quìmicamente modificada, não executa as suas funções na divisão

---

([1]) Em trabalho recentemente publicado (1950, págs. 55-58 e 60, 66-67), argumentámos que o energídio se divide depois da célula ter evolucionado para gametângio. Porém, hoje, isso parece-nos pouco verosímil, pois está um tanto fora da lógica. Cremos, actualmente, que o energídio se divide antes de se dar essa evolução da célula. Mas, quer se divida antes, quer se divida depois, isso em nada alterará a nossa tese quanto à produção, em certas espécies, de dois gâmetas por cada célula, um por cada semicélula. Seja, pois, de um ou outro modo, os argumentos que a seguir apresentamos ficam sempre no mesmo pé.

Quando publicámos esse trabalho (1950), não havíamos ainda admitido, nem argumentado, nas Desmídias, a mineralização da membrana celular; no entanto, tínhamos já aceitado, para a célula, um máximo de divisões vegetativas (págs. 57-58, 60-62 e 67-68). Eis, pois, a razão de, num ou noutro ponto desse trabalho, certas interpretações de alguns factos ou problemas suscitados não condizerem, estrictamente, com as actuais. Deixamos ao cuidado de quem nos ler o fazerem-se as respectivas emendas.

vegetativa, determinando, assim, que as células, com o energídio dividido, evolucionem para gametângios.

Aqui, portanto, o núcleo divide-se; porém, a membrana não executa as funções necessárias para que se efectue a divisão celular, e, deste modo, a célula evoluciona para gametângio com dois energídios, os quais passam a funcionar como dois gâmetas distintos, originando, pela conjugação, dois zigósporos, um por cada duas semicélulas dos copuladores (gametângios). Não obstante, e segundo os poucos elementos conhecidos (veja a pág. 45), estes dois zigósporos produzem o mesmo número de embriões que, nos respectivos géneros, os zigósporos simples.

Onde estão, aqui, pois, os factores que impossibilitam a divisão vegetativa? Estão no núcleo, que executou as competentes operações e se dividiu, ou estão na membrana celular, que deixou de exercer as suas funções, isto é, não acompanhou a divisão do energidio?

Estes casos da produção de zigósporos duplos mostram-nos, claramente, que o envelhecimento da membrana não impede o núcleo de executar as suas funções na multiplicação do indivíduo, e que se esta não se realiza é, apenas, devido ao facto daquela membrana, quìmicamente modificada, não executar as competentes operações.

Portanto, estes casos da produção de zigósporos duplos não nos deixam a menor sombra de dúvida de que, aqui, não há qualquer modificação do núcleo que o impeça de se dividir. O que há, evidentemente, é uma modificação e uma consequente necessidade do indivíduo (célula) que o impedem de se multiplicar. Essa modificação está no envelhecimento da membrana da semicélula mãe; e essa necessidade consiste, precisamente, na substituição daquela membrana, substituição que, em tais circunstâncias, o indivíduo só pode realizar evolucionando para gametângio.

Deste modo, e a nosso ver, o que temos, aqui, é, sobretudo, de atender a certos fenómenos relacionados com o meio e com a membrana de cada um dos hemissomas do indivíduo.

Evidentemente que temos aqui a considerar três casos, muito importantes, relacionados, como é lógico, com o envelhecimento da membrana da semicélula mãe e com o estado de

desenvolvimento da semicélula filha, que pode apresentar-se madura ou imatura.

Como sabemos, e já atrás o dissemos, a divisão vegetativa não pode operar-se em células cuja semicélula filha não tenha atingido o estado adulto, pois que uma divisão não pode iniciar-se sem que a precedente se conclua. E as células com o novo hemissoma imaturo encontram-se ainda numa das fases (crescimento desse hemissoma) da divisão vegetativa (cf. J. Sampaio, l. c., pág. 57).

Nos casos, pois, em que a célula evoluciona para gametângio com o novo hemissoma incompletamente desenvolvido e se produzem zigósporos duplos, o energídio divide-se. Deste modo, provado está que, conforme acontece com o facto da semicélula mãe envelhecer por mineralização da respectiva membrana, o facto da semicélula filha se encontrar ainda incompletamente desenvolvida não impossibilita a divisão do núcleo.

Verifica-se que, aqui, tanto o envelhecimento, por mineralização, da semicélula mãe, como a imaturidade da semicélula filha, não impedem a divisão nuclear. Mas impedem, como se está a ver, as necessárias operações da membrana.

Portanto, na produção de zigósporos duplos, a célula, quer, numas condições, apresente as duas semicélulas maduras, quer, noutras, as apresente uma madura e a outra imatura, evoluciona para gametângio, sempre, com a membrana da semicélula mãe envelhecida e o energídio dividido, de modo a originar dois gâmetas, um por cada semicélula.

Se, pois, num e noutro destes dois interessantes casos, a célula só evoluciona para gametângio desde que, envelhecida a membrana da semicélula mãe, se opere a divisão do energídio, onde estão, aqui, os factores que a impossibilitam de dividir-se? Evidentemente que estão na membrana, que, envelhecida, por mineralização, não executa as respectivas operações na divisão binária. Este facto determina, portanto, que o indivíduo enverede pela conjugação e, assim, se liberte dessa membrana incómoda, substituindo-a por uma membrana nova, apta a executar as competentes funções na desagregação vegetativa, única operação que o multiplica.

Nas Diatomáceas, conforme já atrás esclarecemos (págs. 34-

35), devido, sobretudo, ao modo de funcionamento das duas valvas que constituem a membrana, não se dá bem o caso das Desmídias. A mineralização (silificação) jamais impede o funcionamento dessas duas partes do invólucro celular. No entanto, nas Diatomáceas, passam-se casos idênticos aos das Desmídias, pois, como já vimos atrás, a divisão é também, em dada altura, interrompida por insuficiência da membrana, não pela mineralização, mas pela diminuição do tamanho daquelas valvas, e, em tal emergência, tem de intervir a produção de auxósporos, que se pode dar ou por um processo vegetativo de renovação ou por um processo sexual.

Além do mais, nas Desmídias, o número de cromosomas é, como se sabe, de 2n, passando para 4n na fusão nuclear, que só se realiza no zigósporo, quando este está prestes a germinar. A redução cromática, quanto a estas algas, dá-se também no próprio zigósporo. (veja mais detalhes na chamada 1 da pág. 44).

Sem dúvida, estes casos da formação de zigósporos duplos constituem uma das melhores provas de que, nas Desmídias, a conjugação tem por fim substituir a membrana celular. Mas, admitindo que a conjugação não se destina a substituir as membranas celulares envelhecidas, qual é, então, o seu fim? Qual é, pois, a sua função na conservação da espécie?

Como oposição às nossas ideias, poder-se-ia argumentar que não existem espécies cuja produção de dois gâmetas caracterize o seu processo, *próprio* e *único*, de se conjugar, e que se a célula evoluciona para gametângio com o energídio dividido é porque, acidentalmente, o envelhecimento da membrana da sua semicélula mãe a surpreendeu em pleno estado de divisão vegetativa, precisamente, na altura em que se havia dado a divisão nuclear. Todavia, ainda que assim fosse, isso em nada destruiria a nossa argumentação, que se fundamenta no facto do energídio se dividir e, portanto, não existir aqui qualquer modificação ou necessidade do núcleo que o impeça das suas funções na multiplicação celular.

Já atrás (págs. 50-51) declarámos que não possuímos elementos que nos levem ao conhecimento seguro do modo de reacção da célula quando uma grave mineralização, normal ou acidental, a surpreenda na primeira fase da divisão vegetativa e lhe enve-

lheça a membrana da semicélula mãe logo após a divisão do núcleo. Produzir-se-á, em tal caso, um gametângio com dois gâmetas? Porventura, encontrar-se-á aí a origem do curioso fenómeno da formação dos verdadeiros zigósporos duplos? Cremos que não. É, antes, nosso modo de ver que, em tal caso, a separação celular efectuar-se-á e a célula envelhecida, proveniente, então, da semicélula mãe, evolucionará para gametângio com o novo hemissoma em absoluto início de desenvolvimento, quer dizer, num estado ainda mais atrasado que o representado na fig. A (pág. 50). A outra célula, proveniente, evidentemente, da semicélula filha continuará apta a desenvolver-se e, atingindo o estado adulto, a dividir-se (veja as págs. 50-51).

Além do mais, e como vimos já, as células com o novo hemissoma incompletamente desenvolvido não se dividem, e casos há (constituem a grande maioria), como vimos também, em que células nessas condições de imaturidade evolucionam para gametângios com o energídio dividido, o que prova, irrefutàvelmente, que o envelhecimento não as surpreende em estado de nova divisão vegetativa, operação que só podem efectuar depois daquele hemissoma atingir o estado adulto.

Em nosso critério, e como dissemos já, quer se trate de uma célula madura, quer se trate de uma célula imatura, na produção de verdadeiros zigósporos duplos, a divisão do energídio dá-se depois da membrana da semicélula mãe ter envelhecido, e só então é que a célula evoluciona para gametângio.

Conforme demonstrámos em trabalho anterior (l. c., págs. 56-60 e 63-68), o facto de, em certas espécies, a célula, com o seu hemissoma novo imaturo, evolucionar para gametângio depois de operada a divisão do respectivo energídio nada tem que ver com a divisão vegetativa, porque a membrana transversal nunca, em tal caso, se poderia formar, pois trata-se de uma célula com o novo hemissoma ainda em desenvolvimento, isto é, trata-se de uma célula que se encontra ainda numa das fases (crescimento da nova semicélula) da divisão vegetativa, operação que, como então vimos, não pode repetir-se sem que a sua congénere precedente se haja concluído, ou, antes, sem que o novo hemissoma atinja o estado de maturação.

Segundo alguns autores de trabalhos de teratologia, uma

outra acção do meio ambiente — alheia à mineralização — podia ter interferido neste caso, de modo a, precipitando a fase da divisão do núcleo, determinar que esta interviesse prematuramente, fora da devida altura, antes do novo hemissoma completar o seu desenvolvimento. Em tais circunstâncias, segundo esses autores, a multiplicação vegetativa jamais produziria formas perfeitas. Mas, também — abstraindo do envelhecimento da membrana da semicélula mãe — jamais a célula evolucionaria para gametângio. Produzir-se-ia então, conforme se afirma em vários trabalhos de teratologia desses mesmos autores, uma forma aberrante, isto é, produzir-se-ia uma dessas vulgares anomalias da divisão vegetativa sobejamente conhecidas de todas as pessoas que têm lidado com Desmídias, e que aqueles autores dizem resultar da divisão de células imaturas [1]. Não se trata, aqui, portanto, de uma operação prematura, acidental, relacionada com a divisão vegetativa. Trata-se, segundo os elementos de que dispomos, de uma divisão do protoplasma absolutamente normal, *própria* e *única* de certas espécies, que, segundo esses elementos, *não copulam doutro modo*, feita, aliás, no devido tempo, feita, como argumentámos já em trabalho anterior (l. c., págs. 56-60 e 63-68), para a produção de dois gâmetas.

Deste modo, parece-nos estar suficientemente provado que, em certas espécies, quer se trate de células maduras, quer se trate de células imaturas, o energídio se divide depois da semicélula mãe envelhecer por mineralização, o mesmo não se dando, todavia, quanto à membrana, a qual, dadas tais condições de envelhecimento, deixa de operar as competentes funções na multiplicação binária.

Facto análogo nos demonstram certas formas anómalas — bem conhecidas — cujo núcleo se dividiu e a membrana celular não se separou, pois não se deu a formação do septo transversal ou, segundo o criterioso modo de ver de LEFEVRE (1939), não se operou a função mecânica de membrana em H, que às vezes não chega a formar-se. Nestas células aberrantes, como se

---

(1) LEFEVRE (1939, págs. 23-24) não crê que, mesmo sob condições anormais, a célula entre em nova divisão sem que a precedente se conclua, isto é, sem que o respectivo hemissoma filho atinja o estado adulto. E nós também hoje o não cremos.

sabe, deu-se a formação das novas semicélulas, que, no entanto, ficam deformadas e não se separam (células duplas e múltiplas).

Ora, quer no caso das anomalias, quer no caso do envelhecimento da semicélula mãe, claramente se vê que o núcleo não foi afectado de modo a não poder dividir-se, tendo-o sido, entretanto, a membrana, que, no primeiro destes casos, não perdento todas as suas faculdades de divisão, permitiu que os gomos se formassem, e, no segundo, perdendo, totalmente, essas faculdades (a «camada geradora» deixa de funcionar), não permite a for mação dessesgomos, provocando, assim, a evolução do indivíduo para gametângio.

Como acima d zemos, é já o provámos também (l. c., págs. 63-67), nas *Placodermae*, a formação de dois gâmetas por cada gametângio, de modo a produzirem-se zigósporos duplos, é própria apenas de certas espécies, muito poucas, que não produzem zigósporos simples. Ninguém até hoje observou que, nessa família, as espécies que produzem zigósporos simples, que constituem a quase totalidade das que aí se filiam, produzam também verdadeiros zigósporos duplos, ou, pelo contrário, as que os produzem duplos possam, em dadas condições, produzí-los simples.

Logo, quanto a isto, o nosso modo de ver só deixará de se justificar desde que, na citada família, a produção de verdadeiros zigósporos duplos se observe também numa qualquer espécie que habitualmente produza zigósporos simples, ou vice-versa.

Em trabalho anterior (l. c., págs. 63-67), apresentámos várias provas, bem concludentes e claras, de que, dentro dos actuais conhecimentos da biologia das Desmídias, pelo menos nas *Placodermae*, a produção de verdadeiros zigósporos duplos é *própria* e *única* de certas espécies, que, segundo esses conhecimentos, *não produzem zigósporos simples.*

Deste modo, até hoje, tal reciprocidade, de produção de zigósporos simples e duplos, não está verificada e, de resto, como todos sabem, o núcleo ou o energídio de uma célula podem dividir-se sem que esse facto seja seguido da divisão dessa célula. «Divisão do energídio e divisão da célula são fenómenos diversos e fundamentalmente autónomos» ([1]).

([1]) G. Sampaio (1935, pág. 8).

Assim, é nosso modo de ver que, na produção de zigósporos duplos, a célula, com a membrana da sua semicélula mãe envelhecida por mineralização, só evoluciona para gametângio depois de operada a divisão do respectivo energídio.

Quando, portanto, a membrana envelhece num só hemissoma e a célula, com o energídio dividido, evoluciona para gametângio e opera a copulação, produzem-se zigósporos duplos, pois que os dois energídios, um por cada hemissoma, passam, então, a funcionar como dois gâmetas distintos.

Resta-nos ver como reagirá a célula quando, com a semicélula mãe envelhecida e o energídio dividido, evolucione para gametângio e, depois, lhe envelheça também a semicélula filha, de modo a que ela, embora acasalada, não possa efectuar a copulação (veja a chamada da pág. 42 e a pág. 82)

Esclareça-se desde já que, perante os nossos actuais conhecimentos, não podemos prever com segurança o modo de reacção de uma célula nessas condições anormais, além disso, acentue-se, porque também nunca conseguimos ver, nem mesmo conhecemos na bibliografia das Desmídias, qualquer caso de produção de partenósporos em espécies cujos indivíduos evolucionem para gametângios com dois energídios, o mesmo nos sucedendo, quanto a essas espécies, com a produção de aplanósporos.

À primeira vista, e dentro da lógica, parece que, se dois indivíduos, com o protoplasma já dividido, evolucionarem para gametângios, se acasalarem e, em dada altura, agravando-se as condições ambienciais, lhes envelhecerem também as respectivas semicélulas filhas, de modo a esses indivíduos (gametângios) não poderem copular, teremos, em tais circunstâncias, a produção de quatro partenósporos, isto é, produzir-se-á um partenósporo por cada um dos quatro hemissomas desses indivíduos, e isto porque as quatro porções de protoplasma, já desintegradas, mas impossibilitadas de contactar e se fundir, começem, como nos casos vulgares da produção de um gâmeta por cada gametângio, a formar, individualmente, uma nova membrana, originando, assim, um partenósporo.

Porém, é nosso modo de ver que isto, a ser assim, só em meios com um elevado poder de mineralização será possível em

indivíduos com o novo hemissoma em princípio de desenvolvimento.

Como prevenimos já (pág. 51), devemos ter sempre em vista a intensidade do poder de mineralização do meio — que pode envelhecer os dois hemissomas ou apenas um — e a idade da semicélula filha, isto é, o estado de desenvolvimento que esta semicélula apresenta quando a membrana da semicélula mãe, quìmicamente modificada, deixa de executar as competentes funções. E já dissemos também (pág. 51) que quanto mais novo fôr o hemissoma filho, tanto mais possibilidade terá o gametângio de resistir ao poder de mineralização do meio, e vice-versa. É por isso mesmo que a produção de partenósporos — outro tanto acontece com a produção de aplanósporos — só se tem observado, supomos nós, em indivíduos com o novo hemissoma adulto, ou quase adulto.

Se, pois, a célula, com a membrana da semicélula mãe envelhecida, o energídio dividido e a semicélula filha ainda em estado de simples gomo, evolucionar para gametângio, se acasalar e operar a copulação, produzir-se-á um par de zigósporos (zigósporo duplo). Em tais condições de imaturidade do hemissoma filho, ainda que o poder de mineralização do meio aumente em alto grau, não haverá grande possibilidade da membrana desse hemissoma, em estado de simples gomo e, portanto, com muito pouco tempo de acção do meio, envelhecer antes dos indivíduos copularem, de modo a que a conjugação aborte e, consequentemente, se produzam partenósporos. Pelo contrário, isto é provável e, mesmo, fácil de dar-se — até certo ponto — em células com o novo hemissoma adulto ou quase adulto.

A célula que evoluciona para gametângio e que, depois, o envelhecimento da membrana da sua semicélula filha a impede de se conjugar, de modo a produzir um partenósporo, atravessa, até ao abortamento da copulação, vários graus de diminuição do volume de água do meio, isto é, expôs-se a modificações progressivas, mais ou menos apressadas, do grau de concentração desse meio. A sua semicélula filha vai-se desenvolvendo e mineralizando num ambiente muito concentrado de substâncias minerais, em que, em dada altura, a membrana da respectiva semicélula mãe se mineraliza a ponto de não poder

operar as suas funções na divisão, factos estes que, então, levam a célula a evolucionar para gametângio. Gradualmente, mas em ritmo muito acelerado, as condições de mineralização desse meio continuam a progredir cada vez mais activamente (o meio chega a iminências de dessecação), até acabarem por envelhecer também o hemissoma filho, de modo a impossibilitar a conjugação dos dois gametângios, que, já acasalados, não chegam a copular, produzindo, cada qual, um partenósporo (veja a chamada 1 da pág. 42 e a pág. 82).

Portanto, conforme a lógica e os factos até hoje observados, a produção de partenósporos e aplanósporos dá-se só em células com o hemissoma novo adulto ou quase adulto, enquanto que a produção de zigósporos se pode dar também em células com esse hemissoma apenas em início de desenvolvimento (cf. J. Sampaio, l. c., pág. 47 e, no presente trabalho, as págs. 48-52).

Deste modo, não nos resta a menor dúvida de que, na produção de zigósporos duplos, o energídio se divide depois da semicélula mãe ter envelhecido. Além disso, e como já dissemos, a divisão vegetativa não se opera senão em células maduras, e, com excepção do *Cylindrocystis diplospora* Lund. (*Cosmarium diplosporum* Lutk.) (1), a produção de gametângios com dois gâmetas dá-se, conforme os casos até hoje conhecidos, em células com um hemissoma maduro e o outro imaturo (pelo menos assim se deduz pela grande diferença de tamanho dos dois hemissomas). Este facto, além do mais, parece não permitir, nestas células, o abortamento da conjugação e, talvez por isso mesmo, nunca se lhes viu a produção de partenósporos.

Conforme, pois, se tem observado, nos casos em que se produzem zigósporos duplos, aparte o exemplo acima referido, os indivíduos evolucionam para gametângios com o hemissoma mais novo muito imaturo, o que lhes permite subtrair a conjugação à acção nefasta do envelhecimento desse hemissoma. Se assim não fosse, isto é, se os indivíduos evolucionassem para gametângios com esse hemissoma adulto e, consequentemente,

(1) Segundo um desenho apresentado por West & G. S. West (Brit. Desm., vol. I, Est. IV, fig. 41), e atribuído por Lundell ao *Cylindrocystis diplospora* Lund. (*Cosmarium diplosporum* Lutk.), os gametângios mostram o hemissoma filho adulto. Veja, no nosso trabalho anterior (1950), a chamada 4 do quadro aí anexo.

já um tanto incrustado de substâncias minerais, estariam sujeitos a que uma ligeira alteração do meio lho envelhecesse. Então, a conjugação abortaria e, dentro da lógica, esses indivíduos, acasalados e com o protoplasma já dividido e desintegrado, produziriam um partenósporo por cada semicélula, e isto porque, como já se disse, cada porção de protoplasma produziria uma membrana própria. Teríamos, portanto, a produção de quatro partenósporos por cada par de indivíduos.

Não devemos confundir os agentes que provocam o envelhecimento por mineralização com os que provocam as anomalias da forma. Como vimos, mediante certas condições, uns e outros podem, com maior ou menor actividade, desenvolver-se no mesmo meio.

A frequência da mineralização, depende, sobretudo, da natureza geológica do terreno, factor este que não é essencial na formação das anomalias.

No caso do envelhecimento surpreender a célula numa fase da divisão vegetativa (crescimento do novo hemissoma), dá-se, segundo certas condições, e como vimos, a evolução para gametângio ou esporângio, e nunca a formação de uma anomalia. Se, no entanto, esse facto originasse uma anomalia, esta, sem dúvida, jamais seria reversível, porquanto, trata-se, aqui, de uma célula velha por mineralização da sua membrama, e, como se sabe, a reversibilidade das anomalias opera-se através da divisão vegetativa, que, neste caso, de envelhecimento celular, de modo algum pode efectuar-se.

O que aqui se impõe é a substituição da membrana envelhecida, e esta operação, perante os nossos actuais conhecimentos, só é possível através da produção de zigósporos ou aplanósporos, elementos reprodutores que resistem à dessecação, a que, pelo contrário, a anomalia jamais subsiste. O zigósporo e o aplanósporo são, além do mais, elementos de reprodução e resistência, enquanto que a anomalia não passa de um estado de aberração.

Note-se que as formas filamentosas produzem — e já estudámos um exemplo desses (págs. 64-65) — zigósporos, partenósporos e aplanósporos. Mas não produzem anomalias, quer dizer, são indiferentes a certas alterações do meio. Lefevre

(l. c., pág. 30) diz-nos: «La stabilité des Desmidiées filamenteuses semble, au contraire, parfaite. Je n'ai jamais constaté aucune variation morphologique dans mes cultures de *Desmidium*, de *Sphaerozosma* ou d'*Hyalotheca*. Je n'ai pas souvenance non plus d'avoir vu figurées souvent de monstruosités de ces Algues dans la littérature».

As anomalias da divisão devem-se em geral á falta ou imperfeição da membrana em H, que umas vezes não chega a formar-se e outras se forma incompletamente (cf. Lefevre, l. c., págs. 6-8, figs. 13-40); mas, de qualquer destes modos, nunca os gomos deixam de se desenvolver, ficando as células, portanto, deformadas e ligadas por uma região que não se separou e que corresponde aos dois hemissomas filhos (células duplas e múltiplas).

Estas anomalias produzem-se, pois, quando os agentes externos provocam certas perturbações dos processos de divisão.

Os factores que originam este tipo de anomalias exercem uma acção inconfundível com a dos que determinam a mineralização. Os primeiros não impedem a formação dos novos hemissomas, mas apenas evitam que estes se separem, enquanto que os segundos a impossibilitam em absoluto. Assim, para que as anomalias deste tipo se produzam, é forçoso que a célula entre em divisão; porém, a célula envelhecida por modificação química da sua membrana jamais inicia essa operação.

Como se sabe, as anomalias originam-se apenas sob condições acidentais, enquanto que, conforme já esclarecemos, a mineralização da membrana (da semicélula mãe) se opera quer sob condições acidentais quer sob condições normais.

Desde que as condições do meio se normalizem, a reversibilidade das células anómalas dá-se, como já dissemos (págs. 42, 62-63), após uma a três divisões vegetativas consecutivas. Aqui, portanto, a membrana não se mineralizou, ou, antes, não envelheceu por mineralização, de modo que pode continuar a exercer as suas funções na multiplicação da célula.

Logo, uma anomalia envelhecida por mineralização jamais é reversível.

Segundo o que pudemos concluir do exame de vários trabalhos de teratologia, as anomalias, quanto às Desmídias, devem-se à reacção da célula perante condições biológicas

especiais, estabelecidas pelas seguintes causas: concentração dos produtos de desassimilação das próprias Desmídias e de outros vegetais, desenvolvimento de substâncias tóxicas não provenientes do metabolismo vegetal, excessiva concentração de substâncias nutritivas, certas condições de luminuzidade e modificações bruscas de temperatura.

A acção destes agentes pode acarretar ou ligeiras reacções dos factores internos, que provocam, então, mínimas modificações da forma ou da ornamentação, ou reacções violentas, que, determinando perturbações dos processos de divisão vegetativa, modificam, de um modo acentuado, os caracteres específicos (cf. LEFEVRE, l. c., pág. 22).

São muitos e em extremo variados os factores que podem advir a um meio natural em iminência de dessecar. Desenvolvem-se, sob tal aspecto, causas de várias ordens, umas capazes de provocar anomalias, outras capazes de abreviar o envelhecimento da membrana. E não nos devemos esquecer de que esse meio não é homogéneo para todos os indivíduos aí existentes. Esta homogeneidade existe nos meios de cultura artificiais, preparados no laboratório, mas não existe na natureza.

Os pequenos meios aquáticos em iminência de dessecar produzem muitas e variadas anomalias e, geralmente (depende isso da natureza geológica do terreno), desenvolvem, em alto grau, os agentes da mineralização. São tantas e tão diversas as alterações que se podem dar nesses pequenos meios, e de tal modo graves os seus efeitos na vegetação das Desmídias aí existentes, que não resistimos à tentação de, aqui, transcrevermos, a tal respeito, estas bem redigidas linhas de LEFEVRE (l. c., pág. 27):

«Que se passe-t-il donc dans ces petites mares en voie d'assèchement ?

Il y a concentration du milieu par suite l'évaporation; la teneur en sels minéraux et en matières organiques augmente. Les produits de désassimilation, les toxines bactériennes s'accumulent, la concurrence vitale entre phanérogames et cryptogames s'accroît. La masse liquide diminuant, la température peut s'élever dans de fortes proportions, les fermentations s'accélèrent, les variations nycthémérales se font trés importantes; on peut enregistrer des écarts allant jusqu'à 25° ou 30°

dans les petites cuvettes isolées (Ducellier). Les quantités de CO^2 libre et d'oxygène dissout sont fortement influencées, le pH moyen en est affecté. L'épaisseur de l'écran formé par la masse d'eau ayant diminué, l'absorption des diverses radiations du spectre ne se fait plus avec la même intensité: la pression de l'eau sur les organismes est moins forte».

Produzidos sobre violentas condições do meio, numa altura em que, como vimos, já nem sequer era possível a produção de zigósporos, sem dúvida que os aplanósporos, destinados a suportar uma prolongada dessecação, são células que dispõem de grande resistência.

O zigósporo e o aplanósporo originam-se, pois, em condições de ambiente muito diferentes, e ambos eles, cada qual na sua altura, exercem funções, de reprodução e de resistência, destinadas a actuar em meios também muito diferentes.

Dadas as condições em que se produzem e, ainda, aquelas a que têm de resistir, é de se crer que o aplanósporo seja um elemento reprodutor muito mais resistente que o zigósporo.

O aplanósporo produz-se quando o rigor dos elementos, ameaçando extinguir o meio e, implicitamente, os próprios indivíduos, já não permite que estes tenham vida normal, já não permite — acentue-se — nem a divisão nem a conjugação, apenas deixando prever, implacàvelmente, a morte, o aniquilamento total, ao passo que o zigósporo, como vimos (cf. J. Sampaio, 1950 págs. 60, 62, 67), se produz sob condições — quer normais, quer acidentais — incomparàvelmente menos violentas.

O aplanósporo é, afinal, uma célula já especialmente produzida para resistir às mais graves alterações do meio, ou, antes, para resistir a um período, mais ou menos largo, de completa dessecação, enquanto que o zigósporo, como vimos, não foi pròpriamente originado para esse fim, e supomos que não resistirá a tão violentas condições, demais, porque a sua formação também jamais resiste a uma certa diminuição do volume de água do meio, quer dizer, jamais resiste a uma certa intensidade dos agentes mineralizadores.

Cada qual na sua devida altura, o zigósporo e o aplanósporo desempenham, portanto, funções de defesa indispensáveis às Desmídias. Os rigores a que estas estão sujeitas no pró-

prio meio ambiente, sobremodo instável, constantemente as ameaçam de extermínio — dados os múltiplos e fatais acidentes que podem surgir de um momento para outro e dos quais a dessecação é o que mais graves inconvenientes acarreta. E isto sobremodo se acentua nos pequenos meios aquáticos, tais como: regatos, canais de drenagem, lagoachos, charcos alimentados pelas chuvas, etc. Além disso, está provado que, dada a delicadeza da sua membrana, as Desmídias são plantas muito melindrosas, particularmente sensíveis às alterações do meio, que, embora ligeiras, logo lhes provocam, pelo menos, o desarranjo da divisão vegetativa, forçando-as, assim, a produzirem anomalias, prova evidente da dificuldade de, em tais circunstâncias, se efectuar essa operação multiplicadora do indivíduo.

Possuirá o zigósporo condições de resistência idênticas às do aplanósporo? Resistirá, também, à dessecação do meio? Os nossos conhecimentos não nos permitem responder a estas perguntas.

Como se sabe, os zigósporos não aparecem com a mesma frequência nas diferentes espécies de Desmídias, o que, aliás, se compreende perfeitamente, pois, além do mais, o grau de resistência à mineralização não é o mesmo em todas essas espécies (cf. J. Sampaio, l. c., pág. 60-62), constituindo isto uma das razões por que, nestas plantas, umas espécies se adaptam mais às regiões calcárias do que outras. Claramente se vê, portanto, que a necessidade de entervir a conjugação não é igual para todas as formas específicas, nem para todos os meios. E isto mais se acentua dentro de certos géneros.

De resto, e como tivemos já ocasião de dizer (l. c., pág. 61), ninguém ignorará, certamente, que o indivíduo se pode encontrar em presença de condições favoráveis ou desfavoráveis à execução das suas funções reprodutoras.

As condições biológicas variam segundo as estações.

Evidentemente que se o indivíduo se multiplicar bem é porque as condições do meio lhe convêm, e se se multiplicar mal, é porque essas condições não lhe convêm.

Sem dúvida que as condições do meio podem retardar ou excitar a multiplicação, podem, mesmo, impossibilitá-la.

A presença de muitos zigósporos denuncia, de modo bem

claro, que o meio não é bom — pelo menos nessa altura — para a vegetação das Desmídias, pois acarreta-lhes depressa a incapacidade para a multiplicação. Pelo contrário, quando, num meio, encontrarmos grande quantidade de Desmídias sem que lhes observemos zigósporos, devemos concluir que esse meio, quanto a estas plantas, oferece boas condições biológicas. A presença de aplanósporos denuncia que o meio se tornou impróprio. Isto, claro, quanto à mineralização da membrana, pois são vários os factores que influem nas condições biológicas do meio.



É há muito nosso ponto de fé que este esquisito problema da célula às tantas abandonar a divisão vegetativa e enveredar pela conjugação se desenvolve em volta de uma modificação da respectiva membrana.

Conforme expusemos no decurso deste trabalho, quando a membrana da semicélula mãe, devido a uma mineralização normal, operada lentamente, envelhece e, por consequência, não pode executar as suas funções na divisão vegetativa, intervém a conjugação.

Na conjugação, como vimos (págs. 44-47 e 59-62), os dois indivíduos copuladores são eliminados (admita-se esta expressão), aproveitando-se os seus protoplasmas, que entram na formação do ovo, e regeitando-se as respectivas membranas. O ovo, germinando, produz dois novos seres, aptos a, atingindo o estado adulto, iniciar uma nova série de divisões vegetativas. Não há aqui, pois, multiplicação de indivíduos. O que há, afinal, é a regeição de duas membranas. Os respectivos protoplasmas continuam-se nos dois embriões então formados.

No caso da membrana da semicélula mãe, devido a uma mineralização acidental, operada quase bruscamente, não poder executar as suas funções na multiplicação, dão-se, como vimos também (págs. 61-62), os mesmos factos. A conjugação intervém. Regeitam-se as membranas dos dois indivíduos copuladores, fundem-se os protoplasmas e forma-se o ovo, o qual, depois de um largo período de repouso, germinando, dá origem a dois novos indivíduos, que, atingindo o estado adulto, iniciarão uma nova série de divisões vegetativas.

Estes factos mostram-nos que as duas membranas (uma de cada célula copuladora) foram regeitadas, continuando-se os protoplasmas respectivos nos dois novos indivíduos então formados.

No caso em que o volume de água diminui de tal forma que o meio, em vias de dessecar, adquire condições de mineralização tão violentas que provocam o abortamento da própria conjugação, está, do mesmo modo, em cheque a membrana celular. Este abortamento, como vimos (págs. 42, 50, 52-58, 64-65 e 73-76), origina a formação de dois partenósporos, um por cada dos dois indivíduos acasalados, que não chegam a copular.

Em qual das suas fases, pois, aborta a conjugação, para que se produzam os partenósporos?

Evidentemente que aborta na fase em que a membrana tem de dar saída aos protoplasmas (gâmetas), para que estes contactem e se fundam. Então, a membrana de ambas as semicélulas de cada indivíduo (gametângio), envelhecida, não opera nenhum dos vários processos conhecidos para tal fim, isto é: não se gelifica, não se separa pela linha de junção dos seus hemissomas, não permite qualquer rotura, não forma, nem um verdadeiro, nem um falso tubo de copulação.

Em tais condições, os protoplasmas das duas células acasaladas (gametângios), impossibilitados de contactar, mas já desintegrados, começam, em cada célula, a fabricar uma nova membrana, que se vai desenvolvendo e espessando até expulsar a primitiva, dividindo-a, por pressão, pela linha dos seus hemissomas, que constitui a zona menos resistente. Assim se produzem dois partenósporos, que, depois de formados, conservam, junto de cada dos seus dois topos ventrais, uma metade da membrana regeitada (fig. 10), semelhantemente ao que acontece com o zigósporo (fig. 9). Também não há aqui multiplicação de indivíduos. Tal-qualmente como na conjugação, vemos, apenas, que foram regeitadas duas membranas e que os protoplasmas respectivos se continuaram nos partenósporos, para, mais tarde, quando as condições ambienciais permitirem que estes germinem, se continuar nos consequentes indivíduos.

Se atendermos às anomalias provocadas por acidentes da

divisão vegetativa, vemos, também, em cheque, quase exclusivamente — se não exclusivamente — a membrana celular, pois, quando se originam estas formas aberrantes, não é o protoplasma que deixa de dividir-se, mas sim a membrana. Aqui, ou não se forma a membrana em H ou se forma incompletamente (células duplas e múltiplas) ([1]). Quanto a estas células anómalas, LEFEVRE (l. c., pág. 21), estudando, separadamente, o núcleo, vacúolos, cloroplastídios e pirenoides, acaba por concluir: «L'organisation cytoplasmique des cellules aberrantes est peu modifiée».

Pelo visto, quanto às anomalias, a acção do meio provoca alterações — aparentes — quase exclusivamente na membrana.

Em trabalho nosso (1944, pág. 43), afirmámos: «O conteúdo celular, envolvido pela respectiva membrana, é, por ela, subtraído à influência de certas condições externas, de modo que constitue uma das partes da célula de carácter mais constante».

Desde que as condições do meio se normalizem, a reversibilidade destas células anómalas dá-se, conforme dissemos (págs. 42, 62-63, 76-77), após uma a três divisões vegetativas consecutivas. Aqui, portanto, a membrana não se modificou quimicamente, ou, antes, não se modificou a ponto de ficar inutilizada para a divisão vegetativa (e tanto que se formam os gomos, não se dando, apenas, a respectiva separação), em suma, não envelheceu, de modo que não precisa de ser substituída.

O conjunto destes factos — abstraindo doutros, de não menos importância, que expusemos logo no princípio deste trabalho (págs. 34-47) — leva-nos a concluir, pois, que as causas da membrana, em dada altura, se impossibilitar de exercer as suas funções na multiplicação estão, sobretudo, em se deixar incrustar por matérias que lhe provocam a perda de certas faculdades. E, sendo assim — como tudo leva a crer que é — não pode tratar-se senão de uma mineralização, as mais das vezes lenta, gradual, em que a membrana, pouco a pouco, se vai modificando até envelhecer. Tornar-se-ia necessário, então, um remoçamento celular; mas já sabemos que

([1]) M. LEFEVRE, 1939, págs. 6-8.

as células vegetais envelhecidas por incrustação não remoçam e que, além disso, o remoçamento do indivíduo não existe nas Desmídias. Tais lacunas, no entanto, e como vimos no decorrer deste trabalho, preenchem-nas, cada qual na sua altura, a conjugação e a esporulação, as quais — acentue-se — não multiplicam a célula.

Claro que, quando o meio perde volume de água, aumenta a percentagem das substâncias minerais. Conforme já dissemos (págs. 34, 47), supomos que as substâncias mineralizadoras das Desmídias são: sulfato e carbonato de cálcio, e, ainda, compostos de ferro. Mas, a nosso ver, de todas estas substâncias minerais, a que mais intervirá na mineralização da membrana destas algas deve ser o carbonato de cálcio. Os compostos de ferro parece só afectarem algumas espécies, muito poucas, que apresentam a membrana mais ou menos intensamente ferrugínea.

Em condições normais, a membrana mineraliza-se pouco a pouco e com o lento decorrer do tempo; mas, como é lógico e bem claro, muito mais depressa se mineralizará em certas condições acidentais, as quais, geralmente, surgem no Estio, quadra do ano em que o meio, por evaporação, diminui, quase bruscamente, o seu volume de água.

E isto mais frisante se torna ainda se atendermos à produção de verdadeiros zigósporos duplos (cf. J. Sampaio, 1950), em que a membrana perde a faculdade de operar as suas funções na divisão vegetativa, mas não a perde o energídio. Este, precisamente antes de abandonar a membrana, e como vimos (págs. 66-76), divide-se, com toda a regularidade, produzindo dois gâmetas por cada gametângio. Dá-se, aqui, uma prova evidente de que o energídio não foi afectado e apenas houve a necessidade do abandono, ou, antes, da substituição da respectiva membrana. Note-se que os zigósporos duplos produzem o mesmo número de embriões que os zigósporos simples. Também não há aqui, portanto, a multiplicação do indivíduo.

Sem que apresentem qualquer base de explicação, mas apoiados, apenas, na observação de vários casos, dizem os tratados da especialidade que a conjugação se dá *quase sempre* entre células, *parece que só irmãs*, cujo novo hemissoma *não atingiu ainda o estado adulto* (veja as págs. 42-43).

Se, num meio natural, atendermos a uma dada estirpe, dentro da normalidade, as membranas que primeiro se impossibilitam de operar a divisão, como é lógico e intuitivo — e já isso esclarecemos (págs. 48, 55-76) — são as das semicélulas mães resultantes da primeira divisão vegetativa, as quais, ao cabo de várias divisões sucessivas, são as mais antigas de todas que, então, se originarem. E, assim, consecutivamente, se irão modificando e recorrendo à conjugação os indivíduos de um meio sob condições normais.

Ora, operando-se o envelhecimento celular dentro desta ordem cronológica e tendo a conjugação como único fim substituir a membrana de dois hemissomas de uma célula inicial, os quais, por efeito da divisão binária, passaram a pertencer a duas células distintas e, mais tarde, envelheceram, é evidente que a conjugação se dá entre células, da mesma idade, de um mesmo tronco mãe. Aparte um pequeno número de espécies das Desmídias filamentosas em que as células de um filamento se conjugam com as de outro, não dispomos, actualmente, de elementos que nos habilitem a concluir que a conjugação se pode operar entre indivíduos de estirpes diferentes. E não nos devemos esquecer de que, nas Desmídias filamentosas, há espécies em que a conjugação só se opera entre os indivíduos do mesmo filamento. Parece, pois, que os casos de conjugação entre indivíduos de dois filamentos são muito poucos, constituindo, portanto, uma excepção á regra. Claro que as células de um filamento são da mesma estirpe, pois foram produzidas, por divisões sucessivas, a partir de um único indivíduo.

Quanto ao facto da conjugação se operar entre células cujo novo hemissoma *não atingiu ainda o estado adulto*, fica provado que tal nem sempre se dá. Quando mais não seja, e como vimos já (págs. 48-49), na grande maioria das formas estranguladas encontradas em conjugação, e, nas não estranguladas, em certas espécies, tem-se verificado que as células copulam com o novo hemissoma quase adulto ou, mesmo, adulto. Os factos observados demonstram-nos, pois, que, em certas espécies, a célula evoluciona para gametângio com esse hemissoma menos ou mais desenvolvido, desde o estado em que o gomo principia a desenvolver-se até ao de completa maturação.

Já atrás (pág. 52) dissemos que o estado de desenvolvi-

mento da nova semicélula de um gametângio jamais é fixo para cada espécie, pois o envelhecimento, por mineralização, da semicélula mãe não se relaciona apenas com a idade desta semicélula, mas, também, e sobretudo, com a acção do meio, a qual, segundo a sua maior ou menor intensidade, pode determinar que a célula evolucione para gametângio com o seu novo hemissoma menos ou mais desenvolvido.

Como se viu (págs. 51-52, 73-76), os gametângios com o hemissoma filho em adiantado estado de desenvolvimento correm o risco de, perante um ligeiro agravamento das condições externas, não poderem operar a copulação e, assim, decaírem na produção de partenósporos.

Intervindo a conjugação quando as semicélulas mães, em dois indivíduos, envelhecem por mineralização, claro que se as respectivas semicélulas filhas tiverem atingido o estado adulto, correm o risco, perante alterações, acidentais, do meio ambiente, que podem surgir de um momento para outro, de, quando chegar a altura dos indivíduos copular, já estarem envelhecidas também e, então, conforme se viu quando a conjugação degenera na produção de partenósporos, não poderem executar nenhuma daquelas funções atrás aludidas, isto é, não poderem dar saída aos gâmetas. Já demonstrámos (pág. 51) que quanto mais imaturo for o novo hemissoma do gametângio tanto mais esta célula poderá resistir a um possível aumento de intensidade dos agentes da mineralização, e vice-versa.

Na produção de aplanósporos, como se viu no decurso deste trabalho, o envelhecimento por mineralização dá-se, simultâneamente, nas duas semicélulas (mãe e filha). Também não há aqui a multiplicação do indivíduo. O protoplasma continua-se no aplanósporo, para, mais tarde, quando este germinar, se continuar no novo ser então formado.

Conforme esclarecemos (págs. 79-81), o aplanósporo, como o partenósporo, é uma célula, de reprodução e resistência, produzida sob condições acidentais excepcionalmente violentas.

O aplanósporo e o partenósporo produzem-se, pois, quando os elementos ameaçam extinguir o meio e, implicitamente, o indivíduo, comprometendo, portanto, a conservação da espécie. Estas células reprodutoras só se formam — acentue-se — quando o meio, chegando à iminência de dessecar, adquire condições

de tal modo violentas que impossibilitam a vida dos indivíduos. Estes, então, não podem, como vimos na matéria do presente trabalho, nem dividir-se, nem conjugar-se, evolucionando, assim, para gametângios. Ora, já o mesmo não sucede com a produção de zigósporos, a qual, conforme os exemplos que apresentamos, tanto pode dever-se a condições normais, como a condições anormais. Embora sob condições acidentais, o meio em que apenas se produzem zigósporos não impossibilita a vida das Desmídias, pois, nesse meio, envelhecendo as semicélulas mães por ordem cronológica, os indivíduos das gerações mais recentes podem operar a multiplicação, o mesmo acontecendo com os que provêm da germinação dos zigósporos. Este meio apenas antecipa o envelhecimento da semicélula mãe, reduzindo, assim, o número de divisões do indivíduo. Não impede, radicalmente, a multiplicação, pois, atendendo-se a uma qualquer estirpe, não determina, como na produção de partenósporos e aplanósporos, o envelhecimento das semicélulas filhas.

Portanto, quanto às Desmídias, a presença de muitos zigósporos constitui uma prova evidente de que as condições do meio são más, mas não impossibilitam a vegetação destas plantas. Pelo contrário, a presença de aplanósporos e partenósporos denuncia que o meio se tornou impróprio.

Encontrava-se este trabalho no prelo, e já tínhamos mesmo revisto as primeiras provas, quando nos chegou às mãos o Tomo IX (1948-1949) dos «Anales del Jardín Botánico de Madrid», que insere (págs. 111-123) mais um magnífico artigo de González Guerrero: «Algas del río Tinto (Huelva)».

G. Guerrero, depois de, magistralmente, em cinco páginas e meia, dissertar sobre as péssimas condições biológicas que as águas do rio Tinto (Huelva), «cargadas de azufre, hierro y cobre», apresentam para as Algas, entra na parte sistemática do seu trabalho, citando então 16 espécies ficológicas ([1]), as

([1]) Repartidas por 13 géneros: *Microcystis* Kutz. (1 esp.), *Democarpa* Crouan. (1 esp.), *Tetraedron* Kutz. (1 esp.), *Scenedesmus* Meyen (3 esps.), *Selenastrum* Reinsch. (1 esp.), *Ankistrodesmus* Corda (1 esp.), *Stigeoclonium* Kutz. (1 esp.), *Tribonema* Derb. et Sol. (2 esps.), *Spirogyra* Link. (1 esp.), *Cosmarium* Corda (1 esp.), *Melosira* Agardh. (1 esp.), *Synedra* Ehr. (1 esp.), *Chantransia* (Dec.) Schmitz. (1 esp.).

únicas que pôde descobrir nesse «abiótico rio Tinto», que atravessa uma vasta região mineira, onde se explora, em alta escala, a extracção daquela substância química e daqueles minerais. Quanto às Desmídias, encontrou apenas o ubíquo *Cosmarium laeve* Rab., cujos exemplares que recolheu, como não podia deixar de ser, se encontravam em precárias condições de vegetação. Eis o que então, quanto a esta espécie, nos diz o reputado ficólogo:

Pág. 114. Cosmarium *tiene la dominación sobre las escasas especies encontradas en este abiótico río Tinto. Las células vegetativas son pequeñas y el protoplasma rodea al pirenoide en cada hemicélula como si pusiesen en juego su última esperanza para soportar aquel medio estíptico dulzaino.*

Tanto en los charcos marginales remansados cuanto en las pizarras sumergidas en aguas de mayor o menor impetuosidad del río, se observan películas verde-azuladas continuas de Cosmarium, *con débil espesor y formadas por células vegetativas normales acompañadas de otras teratológicas. Nunca observé* Cosmarium *flotantes e inclusive después de fijados en formol se depositan pronto su células.*

Pág. 122. *Los cloroplastos son de color verde-sucio, con el protoplasma muy retraído, los pirenoides muy manifiestos; existen células teratológicas, con un hemisoma, dividiéndose anormalmente en dirección perpendicular al eje de mayor longitud de la célula. Los zigotos son relativamente frecuentes, esféricos y con membrana fuerte y transparente.*

Perante aquelas condições do meio, esta Desmídia tinha de, frequentemente, recorrer à conjugação, e de tal modo o fazia que o respectivo desenho apresentado por Guerrero (Est. I, fig. 13) mostra-nos 19 indivíduos (alguns anómalos) com nada menos de 6 zigósporos. Quanto, pois, ao nosso ponto de vista, este desenho diz muito mais do que o que podem dizer as palavras. Temos imensa pena de o não podermos reproduzir numa destas páginas, onde constituiria uma prova documental de inexcedível valor.

Nesta altura do nosso trabalho, parece-nos dispensável qualquer comentário às palavras de Guerrero. O leitor já está habilitado a tirar as competentes conclusões. As células encontravam-se em más condições de vegetação. Dividiam-se

com dificuldade, produzindo às vezes anomalias. Mas os zigósporos eram relativamente frequentes...

E estabeleça-se agora o contraste entre as observações feitas por GUERRERO no « abiótico » rio Tinto (Huelva) e as que anteriormente havia feito na fértil Serra do Gerês (Minho), onde, como vimos (págs. 39-41), o eminente ficólogo verificou óptimas condições biológicas para a vegetação das Desmídias. Viu, em toda a região geresiana, notável abundância de indivíduos, com grande variedade de géneros e espécies, mas não conseguiu lobrigar, aí, um único zigósporo... Pelo contrário, nas « abióticas » águas do rio Tinto, não pôde descobrir mais que uma espécie destas plantas, a qual se encontrava em mau estado de vegetação. Mas observou, quanto a essa espécie, e nesse péssimo meio, grande quantidade de zigósporos... Isto diz muito. É às vezes em *ninharias* como esta que se encontra a solução de grandes problemas.

Nas Desmídias, a conjugação, portanto, não representa mais que um processo de defesa contra certas condições do meio. Intervém, como se viu no decorrer deste trabalho, quando os agentes mineralizadores, modificando a membrana, impossibilitam a célula de se multiplicar.

GUERRERO diz-nos ainda (pág. 113): *El río Tinto en todo su trayecto avanza por rocas silíceas, lixiviando a esta sustancia y conteniendo gran cantidad de ella en cualquier sitio de su lecho.*

Sendo assim, nas águas do rio Tinto (Huelva), a nosso ver, a mineralização da membrana deve-se aos compostos de ferro. Sem dúvida, o cobre e o enxofre exercem uma acção tóxica muito activa, a que, no entanto, o *Cosmarium laeve* Rab. resiste, mas não sem que se recinta, como claramente o demonstram as anomalias (veja a pág. 78) e aquela alteração protoplásmica referidas por GUERRERO.

Como factos e conclusões principais, e recapitulando, temos:

Nas Desmídias, o número de cromossomas é, como se sabe, de 2n, passando para 4n na fusão nuclear, que só se realiza no zigósporo, quando este está prestes a germinar. A redução cromática opera-se também no zigósporo, durante a germinação.

Na maior parte das espécies de Desmídias, o zigósporo gera apenas dois embriões, ou seja, tantos como o número de indivíduos que lhe deram origem. Noutras espécies, porém, gera só um. Relativamente, são muito poucas as espécies em que o zigósporo gera quatro embriões, número máximo que pode produzir.

Na conjugação destas algas, as células copuladoras desaparecem, apenas deixando, como meras relíquias, as suas membranas vazias — quando estas não se gelificam — pois que os respectivos conteúdos funcionam como gâmetas, fundindo-se, para produzir o zigósporo.

Nas Desmídias, cada esporo é formado pela renovação do conteúdo de uma célula, de modo que cada esporângio contém apenas um desses elementos reprodutores.

Portanto, quanto a estas plantas, a esporulação, como quase todos os casos de conjugação, não multiplica o indivíduo.

Logo, tratando-se das Desmídias, o termo «reprodução» nem sempre implica a ideia de multiplicação. Só a implicará, pois, quando empregue em referência à divisão vegetativa e aos raríssimos casos de conjugação em que o zigósporo produz quatro embriões.

A membrana, nas Desmídias, incrusta-se, pouco a pouco, de certas substâncias minerais existentes no meio ambiente (possìvelmente, carbonato ou sulfato de cálcio, ou, ainda, compostos de ferro), impossibilitando-se, mais tarde ou mais cedo, de executar as competentes funções na multiplicação do indivíduo.

Este envelhecimento da membrana, quando em condições normais, opera-se as mais das vezes muito devagar, pouco a pouco, com o lento decorrer do tempo; porém, pode apressar-se por acção de condições acidentais.

Como é lógico e intuitivo, quer sob condições normais, quer sob condições anormais, o envelhecimento da membrana por mineralização operar-se-á tanto mais ràpidamente quanto maior for a percentagem das respectivas substâncias minerais existentes no meio.

Consequentemente, e *grosso modo*, quer em condições normais, quer em condições acidentais, o máximo de divisões que uma célula pode operar é tanto menor quanto mais elevada

for a percentagem daquelas matérias existentes no meio, e vice-versa.

Em condições normais, e quanto a uma estirpe, as membranas que primeiro se impossibilitam de operar as suas funções na multiplicação são, como é lógico e evidente, as das semicélulas mães resultantes da primeira divisão vegetativa, as quais, ao cabo de várias divisões sucessivas, são as mais antigas de todas que, então, se originarem. E, assim, consecutivamente, dentro desta ordem cronológica, se irão envelhecendo as células existentes num qualquer meio sob condições normais.

Quando num meio, por evaporação, se reduzir o seu volume de água a ponto de aumentar consideràvelmente a respectiva percentagem daquelas substâncias minerais (condições acidentais), claro que o ritmo de mineralização das membranas se acelerará e, por consequência, a incapacidade para a divisão vegetativa manifestar-se-á, quase ao mesmo tempo, no hemissoma mais velho dos indivíduos de várias gerações, ùnicamente continuando com aptidão para se dividir os indivíduos mais recentemente formados, isto é, aqueles que têm menos tempo de acção do meio e cuja membrana das semicélulas mães, quando o meio foi alterado, apenas apresentava muito ligeiros vestígios de mineralização.

Confirma-se assim o princípio estabelecido no nosso trabalho anterior (1950, págs. 60,67) de que existe um máximo, para a célula, de divisões vegetativas.

Verifica-se que esse máximo é estabelecido pelo envelhecimento, por mineralização, da membrana da semicélula mãe.

Confirma-se, igualmente, o princípio estabelecido no nosso trabalho anterior (l. c., págs. 67-68) de que a célula só se encarreira para a conjugação quando, por condições normais ou acidentais, a semicélula mãe atinge o seu máximo de divisões vegetativas. Verifica-se que factos análogos se passam quanto à produção de aplanósporos em relação com a conjugação e o envelhecimento da semicélula filha.

Verifica-se que a célula só se encarreira para a esporulação quando, por condições acidentais, não pode operar, nem a divisão, nem a conjugação.

Verifica-se também que a célula não pode operar a conjugação quando, por condições acidentais, a membrana da sua

semicélula filha envelhece por mineralização, deixando, assim, de executar as competentes funções.

Deste modo, o envelhecimento celular pode manifestar-se numa (casos normais e acidentais) ou nas duas (casos acidentais) semicélulas do indivíduo. No primeiro caso, revela-se, sempre, e como é lógico, na semicélula mãe.

Quando o envelhecimento se der só na semicélula mãe (casos normais e acidentais), o indivíduo, impossibilitado, então, de dividir-se, evolucionará para gametângio, acasalando-se. Se, depois, a acção do meio não envelhecer também a outra semicélula (semicélula filha), os dois indivíduos acasalados, efectuando a copulação, produzirão um zigósporo (casos normais e acidentais). Se, pelo contrário, a acção do meio envelhecer essa semicélula (casos acidentais), cada dos dois indivíduos acasalados, então impossibilitado de copular, produzirá um partenósporo. Quando, porém, brusca e simultâneamente, envelhecerem as duas semicélulas (casos acidentais), o indivíduo evolucionará para esporângio, produzindo, consequentemente, um aplanósporo.

Portanto, a conjugação intervém quando a célula, com a membrana da sua semicélula mãe mineralizada -- quer por condições normais, quer por condições acidentais — perde a faculdade de dividir-se, intervindo, por sua vez, a esporulação quando, progredindo as condições de mineralização, a célula, com os seus dois hemissomas incrustados por substâncias minerais, perde a faculdade de operar ambos aqueles processos de se reproduzir (divisão vegetativa e conjugação), colocando em risco, consequentemente, a conservação da espécie.

Uma célula com a semicélula mãe envelhecida por mineralização não pode dividir-se, mas pode evolucionar para gametângio; uma célula com as duas semicélulas envelhecidas por mineralização não pode, nem dividir-se, nem conjugar-se, mas pode evolucionar para esporângio.

Logo, e recapitulando, as células com a semicélula mãe envelhecida evolucionam para gametângios, e produzem zigósporos; as células com as duas semicélulas (mãe e filha) envelhecidas simultâneamente evolucionam para esporângios, e produzem aplanósporos; as células com as duas semicélulas envelhecidas não simultâneamente, isto é, com a semicélula

mãe envelhecida anteriormente à semicélula filha, evolucionam primeiro para gametângios e, depois, por abortamento da copulação, produzem partenósporos.

O estado de desenvolvimento da nova semicélula de um gametângio jamais é fixo para cada espécie, pois o envelhecimento, por mineralização, da semicélula mãe não se relaciona apenas com a idade desta semicélula, mas, também, sobretudo, com a acção do meio. Esta, conforme a sua maior ou menor intensidade, pode determinar que a célula evolucione para gametângio com o seu novo hemissoma menos ou mais desonvolvido.

As mais das vezes — segundo os vários casos até hoje observados — o gametângio apresenta a semicélula filha imatura, e isto, a nosso ver, porque há muito mais possibilidade da modificação da semicélula mãe se completar durante o crescimento daquele hemissoma (hemissoma filho) do que, precisamente, quando ele atinge o estado adulto e á célula, portanto, não tardará a entrar em nova divisão vegetativa.

É nosso ver que se uma grave mineralização, normal ou acidental, surpreender a célula na primeira fase da divisão vegetativa e lhe envelhecer a membrana da semicélula mãe logo após a divisão do núcleo, a separação celular completar-se-á e a célula envelhecida, proveniente, então, da semicélula mãe, evolucionará para gametângio com o novo hemissoma em início de desenvolvimento (veja as págs. 50-51, 69). A outra célula, proveniente, evidentemente, da semicélula filha, continuará apta a desenvolver-se, e, atingindo o estado adulto, a dividir-se.

Se a célula, conforme a maioria dos casos, evolucionar para gametângio com o novo hemissoma imaturo, claro que o gametângio corre muito menor risco de envelhecer que se a célula evolucionar com esse hemissoma já maduro. Sem dúvida que, naquelas condições, o novo hemissoma oferece uma resistência à mineralização que não poderá oferecer depois de adulto, estado este em que, evidentemente, a respectiva membrana — embora ainda não impossibilitada de exercer as suas funções — se encontra já mais ou menos incrustada de matérias minerais.

O facto da célula, como é vulgar, evolucionar para gametângio com o novo hemissoma imaturo permite-lhe subtrair a

conjugação à influência nefasta de um possível envelhecimento daquele hemissoma, envelhecimento que, se não fosse assim, a acção do meio, em certos casos, provocaria de um momento para outro.

Portanto, quanto mais novo for o hemissoma filho, tanto mais possibilidade terá o gametângio de resistir aos agentes mineralizadores. É por isso mesmo que a produção de partenósporos — outro tanto sucede com a produção de aplanósporos — só se tem observado, supomos nós, em indivíduos adultos ou quase adultos.

A produção de falsos zigósporos duplos deve-se ao envelhecimento, acidental, da membrana das semicélulas mães de quatro indivíduos provenientes de duas divisões vegetativas consecutivas, os quais, em tais circunstâncias, cessando de multiplicar-se, evolucionam para gametângios, conjugam-se dois a dois e produzem, cada par, um zigósporo.

A resistência à mineralização — ou aos seus efeitos — varia com as espécies. E também já sabemos que as condições internas variam dentro desta mesma ordem (vide J. SAMPAIO, l. c., págs. 63, 65).

Na produção de verdadeiros zigósporos duplos, o energídio divide-se depois de envelhecida a membrana da semicélula mãe, e só então é que a célula evoluciona para gametângio. Produzem-se, neste caso, verdadeiros zigósporos duplos, pois que os dois energídios de cada célula, um por cada semicélula, passam a funcionar como dois gâmetas distintos.

Confirma-se o princípio estabelecido no nosso trabalho anterior (l. c., págs. 59, 63,65, 67) de que, pelo menos nas *Placodermae*, a produção de zigósporos duplos diz respeito a um processo de conjugação *próprio* e *único* de certas espécies — muito poucas — que *não produzem zigósporos simples.*

Na produção de zigósporos duplos, portanto, o núcleo divide-se; porém, a membrana não executa as funções necessárias para que se efectue a divisão celular, e, deste modo, a célula evoluciona para gametângio com dois energídios, os quais passam a funcionar como dois gâmetas distintos, originando, pela conjugação, dois zigósporos, um por cada duas semicélulas dos copuladores (gametângios). Não obstante, e segundo os elementos conhecidos (veja a pág. 45), estes dois

zigósporos produzem o mesmo número de embriões que, nos respectivos géneros, os zigósporos simples.

Onde estão, aqui, pois, os factores que impossibilitam a divisão vegetativa? Estão no núcleo, que executou as competentes operações e se dividiu, ou estão na membrana celular, que deixou de exercer as suas funções, isto é, não acompanhou a divisão do energídio?

Portanto, estes casos da produção de zigósporos duplos mostram-nos, claramente, que o envelhecimento da membrana não impede o núcleo de exercer as suas funções na multiplicação do indivíduo, e que se esta se não realiza é, apenas, devido ao facto daquela membrana, quìmicamente modificada, não executar as competentes operações.

No caso em que a célula evoluciona para gametângio com o novo hemissoma incompletamente desenvolvido e se produzem zigósporos duplos, o energídio divide-se. Deste modo, provado está que, conforme acontece com o facto da semicélula mãe envelhecer por mineralização da respectiva membrana, o facto da semicélula filha se encontrar ainda imcompletamente desenvolvida não impossibilita a divisão do núcleo.

Portanto, verifica-se que, aqui, tanto o envelhecimento da semicélula mãe, como a imaturidade da semicélula filha não impedem a divisão nuclear. Mas impedem as necessárias operações da membrana.

Deste modo, na produção de zigósporos duplos, quer se trate de células maduras, quer se trate de células imaturas, o energídio divide-se depois da semicélula mãe envelhecer por mineralização, o mesmo não se dando com a membrana celular, que, uma vez envelhecida, jamais executa as competentes operações da multiplicação vegetativa.

Facto análogo nos demonstram certas formas anómalas — bem conhecidas — cujo núcleo se dividiu e a membrana celular não se separou, pois não se deu a formação do septo transversal ou, segundo Lefevre (1939), não se operou a função da membrana em H, que às vezes não chega a formar-se. Nestas células aberrantes, como se sabe, deu-se a formação das novas semicélulas, que, no entanto, ficam deformadas e não se separam (células duplas e múltiplas).

Estes casos da produção de zigósporos duplos não nos

deixam a menor dúvida de que, aqui, não há qualquer modificação do núcleo que o impeça de se dividir. O que há, evidentemente, é uma modificação e uma consequente necessidade do indivíduo(célula) que o impedem de se multiplicar. Essa modificação está no envelhecimento da membrana da semicélula mãe; e essa necessidade consiste, precisamente, na substituição daquela membrana, substituição que, em tais circunstâncias, o indivíduo só pode realizar evolucionando para gametângio.

Logo, na produção de zigósporos duplos, a célula, quer, nuns casos, apresente as duas semicélulas maduras, quer, noutros, as apresente uma madura e a outra imatura, evoluciona para gametângio, sempre, com a membrana da semicélula mãe envelhecida e o energídio dividido, de modo a originar dois gâmetas, um por cada semicélula.

Temos aqui, portanto, mais uma prova evidente de que divisão do energídio e divisão da célula são fenómenos diversos e fundamentalmente autónomos.

Verifica-se na conjugação e na esporulação das Desmídias, a imortalização do protoplasma e a substituição da membrana, e jamais a multiplicação da célula.

Quanto a este grupo de Algas, quer a conjugação, quer a esporulação, não apresentam, no fim que atingem, senão os efeitos de uma renovação celular, aliás indispensáveis para o prosseguimento da divisão vegetativa, única operação que multiplica o indivíduo.

Já sabemos que as células vegetais envelhecidas por mineralização não podem dividir-se, nem remoçar. E, nas Desmídias, também não existe o remoçamento do indivíduo. Entretanto, tais lacunas, nestas algas, preenchem-nas, cada qual na sua altura, a conjugação e a esporulação.

Quanto às Desmídias, a presença de muitos zigósporos constitui uma prova evidente de que as condições do meio são más, mas não impossibilitam a vegetação destas plantas. Pelo contrário, a presença de aplanósporos denuncia que o meio se tornou impróprio.

Os partenósporos do *Penium silvae nigrae* Rabanus, citados neste trabalho (fig. 10), são novos para a Ciência. E é esta

a primeira vez que se referem partenósporos numa Desmídia da flora portuguesa.

Enfim, acentue-se que, nas Desmídias, a célula se encarreira para a conjugação quando, com a semicélula mãe envelhecida por mineralização (casos normais e acidentais), não pode dividir-se, e se encarreira para a esporulação quando, envelhecendo-lhe as duas semicélulas (casos acidentais), não pode dividir-se nem conjugar-se, comprometendo, consequentemente, a conservação da espécie.

Deste modo, nas Desmídias, a conjugação e a esporulação estão para a mineralização da membrana, respectivamente, de um ou de ambos os hemissomas, na mesma razão que, nas Diatomáceas, a auxosporulação está para o decrescimento do tamanho das valvas.

Note-se que, na auxosporulação das Diatomáceas, quer esta se opere por um processo vegetativo de renovação, quer se opere por um processo sexual, também se dá, como na esporulação e na conjugação das Desmídias, o abandono das membranas dos respectivos indivíduos. E ninguém ignora que a auxosporulação intervém quando, na multiplicação binária, o decrescimento das valvas atinge determinado valor, e, por consequência, o indivíduo tem de libertar-se da respectiva membrana, substituindo-a por outra que lhe permita continuar as operações da multiplicação.

Quer nas Diatomáceas, quer nas Desmídias, trata-se, portanto, de uma substituição da membrana.

E assim fica demonstrada a razão por que os zigósporos das Desmídias rareiam extremamente, ou não aparecem, no Norte de Portugal.

Em nosso critério, estamos em presença de matéria da mais alta importância para o estudo da biologia da reprodução e da multiplicação, não só das Desmídias, mas ainda de outros grupos ficológicos. Além disso, e como vimos, os casos tratados explicam-nos problemas diversos, até hoje insolúveis. O estudo da biologia das Algas enriquece-se, pois, com novos conhecimentos, que muito o devem modificar em alguns dos seus capítulos de mais transcendente importância.

Cremos que os factos se determinam e sucedem mais ou menos conforme os expomos. Por isso, aqui deixamos este

humilde labor à apreciação dos algologistas, que, não lhes faltando competência, o poderão ver e julgar à luz da verdade, base de toda a Ciência.

BIBLIOGRAFIA CITADA NO TEXTO

ALLORGE, P.
1931-32 Bibliographie. *Rev. Alg.*, VI. Paris.

BARY, A. DE
1858 Untersuchungen über die Familien der Conjugaten. Leipzig.

CARTER, N.
1923 *in* W. WEST & G. S. WEST, A Monograph of the British Desmidiaceae, V. London.

COMÉRE, J.
1901 Desmidiées de France. Paris.

COUCH, G. C. e RICE, E. L.
1948 Vegetative Habit and Reproduction of *Desmidium Grevillii* (Kütz) De Bary. *Contrib. from the Dep. of Plant Sc. Univ. Oklahoma.*

DANGEARD, P.
1933 Traité d'Algologie. Paris.

GAY, F.
1884 Monographie Locale des Conjuguées. Montpellier.

GUERRERO, P. G.
1949 Algas del Río Tinto (Huelva). *An. del Jard. Bot. de Madrid,* tomo IX. Madrid.
1950 Algas y Cianofíceas de la Sierra de Gcrês. *Simpósio da Flora do Gerês.* Alcobaça.

LEFEVRE, M.
1939 Recherches Expérimentales sur le Polymorphisme et la Tératologie des Desmidiées. *Encycl. Biol.*, XIX. Paris.

POTTOFF, H.
1928 Zur Phylogenie und Entwicklungsgeschichte der Conjugaten. *Ber d. Deutsch. Bot. Ges.*, 46.

KRIEGER, W.
1937 Die Desmidiaceen. *Rabenhorst's Kryptogamen-Flora,* XIII. Leipzig.

LACERDA, F.
1948 Notas Algológicas. *Bol. Soc. Portug. Ciênc. Nat.*, vol. I, 2.ª sér. (vol. XVI). Lisboa.

ROZEIRA, A.
1947 Primeiro Reconhecimento das Desmídias da Serra da Estrela. *Brot., sér. Ciênc. Nat.*, vol. XVI. Vila Nova de Famalicão.

SAMPAIO, G.
1935 Programas Descritivos de Botânica Geral (3.ª edição). Porto.

SAMPAIO, J.
1944 Desmídias Portuguesas. *Bol. Soc. Brot.*, XVIII (2.ª sér.). Alcobaça.
1949 Desmídias Novas para a Flora Portuguesa. *Bol. Soc. Brot.*, XXIII (2.ª sér.). Alcobaça.
1950 Observações Sobre os Processos de Conjugação Sexual das Desmídias e Correspondentes Tipos de Zigósporos. *Bol. Soc. Brot.* (2.ª sér.) Alcobaça.

WEST, W. e WEST, G. S.
1904 A Monograph of the British Desmidiaceae, I. London.

NOVIDADES DA FLORA DE ANGOLA

por

A. W. EXELL E F. A. MENDONÇA

Recebido para publicação em 10 de Março de 1951.

Uvariopsis Noldeae EXELL & MENDONÇA, sp. nov. (Annonaceae).

Arbor?, ramulis juventute appresse-pubescentibus mox glabrescentibus. *Folia* breviter petiolata, petiolo 1-2 mm. longo juventute pubescenti demum glabrescenti, lamina anguste elliptica vel oblanceolata, 11-20×4-6 cm., basi rotundata apice plus minusve longe acuminata supra nitidula glabra subtus sparsissime pubescenti glabrescenti, costis lateralibus, circa 12-paribus vix conspicuis. *Flores* monoeci cauliflori 2-3 fasciculati. *Flores* ♂ breviter pedicellati, pedicello 4 mm. longo in sicco rufo-sericeo basi 2-bracteolato, bracteolis suborbicularibus parvis, 0.5-1 mm. in diam., dense pubescentibus. *Sepala* 2, suborbicularibus, 2×2 mm., extus rufo-sericea intus glabra. *Petala* 4, crassiuscula oblongo-lanceolata, 10×3.5 mm. *Stamina* numerosissima, antheris 0.6×0.4 mm., filamentis brevissimis. *Flores* ♀ longe pedicellatis, pedicello 7 cm. longo sparse rufo-appresse-pubescenti, bracteolis 2, altera suborbiculare vel triangulare dense appresse pubescenti fere ad basin inserta, altera simile 5-25 mm., supra basin inserta. *Sepala* 2, suborbicularia, 4×4 mm., extus rufo-sericea intus glabra. *Petala* 4, crassa anguste ovato-acuminata, 14-15×7.8 mm. *Carpella* numerosa sericea, ovulis circa 20 biseriatim dispositis.

MALANGE: Quela, alt. 1200 m., *I. Nolde* 576 (BM, tipo; Coi).

Esta espécie aproxima-se de *Uvariopsis Solheidii* (De Wild.) Robyns & Ghesq., proveniente de Yambuya, Congo Belga, mas difere nitidamente desta pela forma das pétalas, sendo as de *U. Noldeae* quase duas vezes mais largas na base.

Ritchiea Gossweileri Exell & Mendonça, sp. nov. (Capparidaceae).

Frutex scandens, 1.5 m. altus, ramulis glabris. *Folia* 3-foliolata petiolata, petiolo gracile 4-5 cm. longo glabro, foliolis petiolulatis, petiolulo 3-3.5 mm. longo glabro, lamina elliptica apice leviter acuminata apiculata, basi acuta, 6-9 × 2.5-3.5 cm., omnino glabra, costa media subtus prominente, costis lateralibus 5-6 paribus supra vix conspicuis subtus prominulis. *Flores* pedicellati, pedicello 2.5-3 cm. longo, in racemos breves paullo supra-axillares dispositi, pedunculo 2.5-3 cm. longo. *Sepala* 4, anguste oblique lanceolata, 30 × 7-9 mm., margine minutissime pubescentia ceteroque glabra. *Stamina* numerosa, filamentis 25 mm. longis glabris, antheris 4 × 0.8 mm. glabris. *Ovarium* anguste ellipsoideum, 5 × 1.2 mm., glabro, gynophoro 20-25 mm. longo glabro [*Fructus* ignotus].

MOXICO: Teixeira de Sousa, arbusto escandente de 1.5 m., com flores amarelas esverdeadas, esporádico in *Durifruticeta*, fl. Jul. 1940, *Gossweiler* 12268 (BM, tipo).

Esta espécie aproxima-se de *Ritchiea Noldeae* Exell & Mendonça, mas tem pétalas mais estreitas, pouco excedendo as sépalas.

Pittosporum rhodesicum Cufodontis, sp. nov. (Pittosporaceae).

Frutex usque ad 3-5 m. altus; ramuli et inflorescentiae axes pilis flavidis patentibus hirti. *Folia* pallide viridia, vix discoloria, late lanceolata vel obovato-lanceolata plerumque longiuscule acuminata, nervis et venarum reticulo denso haud conspicuis, costa et petiolo hirtis vix glabrescentibus. *Inflorescentiae* pauciflorae, terminales et axillares, subumbellato-paniculatae; bracteae subulatae deciduae. *Sepala* libera, non imbricata, ovato-lanceolata, 2.5 × 1 mm., ciliolata, acuta vel acuminata. *Petala* flavescentia, sublinearia, 7 × 1.5 mm. *Staminum* fertilium filamenta 4 mm., anthera 2 mm. longae. *Gynoecium* sterile ovario inferne piloso, 5 mm. longo. *Fructus* maturi breviter stipitati; valvae fere horizontaliter patentes, usque 8 mm. in diam., crassiusculae, dorso convexo-vel subplano-gibbosae, margine inflexo ventre

concavae, rugis tenuibus, placentis a basi centrum valvae attingentibus. *Semina* rubiginosa, 4-6.

RHODESIA DO NORTE: rio Kyangozhi, prox. de Solwezi, 12° 10′ do S., 26° de E.. *Milne-Redhead* 1148 (Br; K, tipo).

ANGOLA. LUNDA: rio Luachimo, alt. 1300 m., 24. Abr. 1937, fr. mad., *Exell & Mendonça* 1033 (BM; Coi); Dala, prox. do rio Chiumbe, Abr. 1937, *Gossweiler* 11426 (BM; Coi), 11701 (BM; Coi).

Agradecemos ao Dr. CUFODONTIS, de Viena, a descrição desta nova espécie.

Pittosporum cacondense EXELL & MENDONÇA in Journ. of Bot. LXXIV, Suppl. Polypet. Addend.: 16 (1936), descr. ampl.

Flores adhuc ignoti in inflorescentia pauciflora terminali, fragrantissimi, pedicellis hirtis, bracteis subulatis, 5 mm. longis, satis persistentibus; alabastra sursum attenuata. *Sepala* libera, non imbricata, ovato-lanceolata, ciliolata, acuminata, 2.5-3.5 mm. longa. *Petala* dilute lutea, medio diu cohaerentia, erecta, apice tantum refracta, 9-10 $\times$ 2 mm. *Staminum* fertilium filamenta 5 mm., antherae 2.5 mm. longae. *Gynoecium* sterile ovario $\pm$ glabro, 6-7 mm. longum. *Fructus* maturi brevissime stipitati valvae horizontaliter patentes, 10 mm. et ultra in diam., crassissimae lignosae, dorso convexae, intus planae vel etiam subconvexae, margine vix inflexo, rugis transversalibus crassis sed obsoletis, placentis a basi valvae centrum attingentibus. *Semina* rubra numerosa, usque 12.

Agradecemos ao Dr. CUFODONTIS esta ampliação, feita sobre novo material, da nossa descrição original incompleta.

Corchorus angolensis EXELL & MENDONÇA, sp. nov. (Tiliaceae).

Suffrutex vel *herba perennis* basi lignosa, ramulis teretibus pubescentibus. *Folia* alternata petiolata, petiolo pubescenti 5-25 mm. longo, stipulis filiformibus pubescentibus 4 mm. longis mox deciduis, lamina lanceolata ovato-lanceolata oblongo-

-lanceolata vel nonnunquam anguste lanceolata, apice acuta margine serrata basi obtusa vel cordata, usque 7×2.8 cm. nonnunquam multo minori. *Flores* flavi pedicellati, pedicello 3-8 mm. longo pubescenti, pedunculo 2.5 mm. longo pubescenti, in cymulis 2-5 floris dispositi nonnunquam solitarii. *Sepala* 5, lanceolata caudata, 10×2.5 mm., extus pubescentia intus glabra. *Petala* 5, anguste obovata, 8×4.5 mm., glabra. *Stamina* numerosa, filamentis 10 mm. longis, antheris 0.8×0.5 mm. *Ovarium* 3-loculare cylindricum, 3×0.9 mm., glabrum, stylo 3 mm. longo, glabro, stigmate capitato, toro 1 mm. longo, glabro. *Capsula* elongato-siliquiformis, 1.5-6 cm.×1.5 mm., glabra vel fere glabra nonnunquam torulosa, vix vel brevissime rostrata, seminibus ellipsoideis 1.5-2.2×0.9-1.2 mm. glabra.

Huila: Ungueria, alt. c. 1300 m., erva vivaz do mato xerófilo, *Exell & Mendonça* 2488 (BM, tipo; Coi).

Mossâmedes: Hoque, alt. 710 m., pequeno arbusto com flores amarelas, margem do rio, solo de aluvião, *Abreu* 74 (BM; Coi).

Esta espécie difere de *C. trilocularis* L. pelo hábito e ecologia (*C. trilocularis* é uma erva anual ruderal, ou arvense) e também por certos caracteres que isoladamente são inconstantes, mas em conjunto suficientemente distintos para nos convencer que se trata de uma espécie diferente. As folhas, usualmente menores, não têm o prolongamento filiforme dos dentes basais, característico (mas não absolutamente constante) em *C. trilocularis*; as cápsulas maduras não mostram tão distintamente a escultura correspondente à posição das sementes; as sementes são em regra até duas vezes maiores; os pedicelos são geralmente mais longos e gráceis.

C. angolensis difere nìtidamente de *C. asplenifolius* Burch. e de *C. serraefolius* Burch. pelo serriado mais apertado das folhas.

Escolhemos *Exell & Mendonça* 2488 para tipo, porque mostra bem o hábito da espécie e tem cápsulas maduras. A descrição das flores foi feita do espécime *Abreu* 74.

NECTAROPETALACEAE Exell & Mendonça, fam. nov. (Trib. *Nectaropetaleae* Winkl. in Engl. & Prantl, Nat. Pflanzenfam. ed 2, XIX a: 120 (1931). Gen. typ. *Nectaropetalum* Engl., (*Peglera* Bolus).

Pinacopodium Exell & Mendonça, gen. nov.

Flores pedicellati, pedicello basi bracteolato, in pseudo-umbellas pedunculatas, pedunculo applanato ligulato, in bracteorum axillis e nodis confertis dispositi. *Sepala* 5, valvata. *Petala* 5 (nonnunquam 4) concava unguiculata, lamina basi fovea nectarifera instructa. *Stamina* 12 (-15?) filamentis basi breviter connatis, antheris basifixis. *Ovarium* biloculare, loculis 1-ovulatis, ovulo pendulum; *stylus* brevissimis, stigmate peltato-bilobato. *Arbor* alta. Species unica *P. congolense* (S. Moore) Exell & Mendonça.

Este género difere de *Nectaropetalum* Engl., pelas inflorescências pseudo-umbeladas produzidas na axila de brácteas decíduas, em nós muito curtos (apertados), alternando periòdicamente com nós folhosos espaçados; e pelo estilete curto com estigma peltado.

IXONANTHACEAE Exell & Mendonça, fam. nov. (Trib. *Ixonantheae* Bent. & Hook., Gen. Plant. I: 242 (1862); Subfam. *Ixonanthoideae* Winkl. in Engl. & Prantl, Nat. Pflanzenfam. ed. 2, XIX a: 123 (1931). Gen. typ. *Ixonanthes* Jack.

Concordamos com Hutchinson (*vide* « Families of Flowering Plants, I: 199 (1926)) em que *Ixonanthes* e *Ochthocosmus* devem ser retirados de *Linaceae*, mas pareceu-nos mais natural colocá-los em uma família autónoma do que incluí-los em *Erythroxylaceae*.

Ochthocosmus Gossweileri Exell & Mendonça, sp. nov. (Ixonanthaceae).

Suffrutex vel *arbor* parva, ramulis glabris. *Folia* petiolata, petiolo 5-6 mm. longo glabro, lamina elliptica apice leviter acuminata margine crenulato-serrata basi breviter cuneata, 6-9 × 3.5-4 cm., supra nitida omnino glabra, costa media supra plana subtus prominente, costis lateralibus 5-6 paribus. *Flores* (delapsi) pedicellati, pedicello 1.5-3 mm. longo, in racemos vel

paniculas breves 1-2 cm. longas axillares dispositi, rhachide glabra. *Sepala* persistentia rotundata 1 mm. longa glabra. *Capsula* ellipsoidea, 4.5-5 × 2.5-3.5 mm., glabra.

CABINDA: N'Canda M'Bacu, Luali-Chiluango, alt. 50 m., *Gossweiler* 9061 (BM, tipo).

Arbusto ou pequena arvore da formação hidrófila.

Esta espécie é notável pelas inflorescências axilares muito curtas.

Ochthocosmus cuanzensis EXELL & MENDONÇA, sp. nov. (Ixonanthaceae).

Arbor, ramulis cinereo-purpureis glabris. *Folia* breviter petiolata, petiolo 1-2 mm. longo glabro, lamina elliptica oblongo-elliptica vel ovato-elliptica apice acuminata margine integra basi breviter cuneata, 3-11 × 1.5-5 cm., vix nitida glabra, costa media supra subtusque prominula, costis lateralibus 7-8 paribus. *Flores* graciliter pedicellati, pedicello 4-6 mm. longo glabro, in racemos vel pseudo-racemos 2-4 cm. longos axillares dispositi. *Sepala* late elliptica apice rotundata basi connata 1.5-2 mm. longa glabra. *Petala* obovato-spathulata concava, 4 × 2 mm., glabra. *Stamina* 5, filamentis 3.8 mm. longis vix exsertis glabris. *Ovarium* conicum 1.2 × 1.1 mm. glabrum 5-loculare, loculis 2-ovulatis, ovulis pendulis, stylo 2.8 mm. longo glabro. *Capsula* ovoidea vel ellipsoidea, 5-7 × 3.5-5.5 mm. glabra, seminibus ellipsoideo-cymbiformibus, 4.5 × 1.5-2 mm., nigris nitidis glabris apice arillatis, arillo ad 3 mm. longo.

MALANGE: Catarata de Condo, rio Cuanza, alt. 1000 m., *Gossweiler* 11858 (BM, tipo; Coi).

Num fragmento de *Laurifruticeta* edáfica.

Esta espécie concorda com *O. Gossweileri* pelos racimos curtos ou pseudo-racimos axilares, mas difere pelas folhas inteiras e pelos pedicelos mais compridos. Difere de *O. Thollonii* De Wild. pelas folhas relativamente mais largas e mais curtamente acuneadas na base, pelos filetes mais curtos que as pétalas (levemente exsertos em *O. Thollonii*) e pelas sementes maiores.



Citropsis Noldeae EXELL & MENDONÇA.

a) Ramo florífero (×½). b) Flor (×2½). c) Gineceu (×5).

Citropsis Noldeae Exell & Mendonça, sp. nov. (Rutaceae) Tab. I.

Arbor vel *frutex*, ramulis spinosis juventute puberulis demum glabrescentibus, spinis solitariis axillaribus 1.5-2 cm. longis. *Folia* 3-5-foliolata, petiolo leviter sulcato vix alato 1.5-2.5 cm. longo, primo puberulo mox glabrescenti, foliolis brevissime petiolulatis, petiolulo 0.5-1 mm. longo, lamina anguste vel late elliptica apice plerumque breviter acuminata, acumine rotundato, margine irregulariter dentata, basi acuta vel cuneata, foliolo terminale lateralibus subsimile vel nonnunquam paullo majore, lamina subcoriacea, 3-7 × 1.5-4.5 cm., glanduloso-punctata, costa media supra depressa subtus prominula, nervis lateralibus 5-7 paribus, omnino glabra, rhachide applanato vel anguste alato, ala ad 1 mm. lata. *Inflorescentiae* breves axillares, pedunculo ad 6 mm. longo pubescenti, bracteis ovatis 0.8 mm. longis, pedicellis ad 7 mm. longis pubescentibus. *Sepala* 4, ovato-deltoidea glandulosa pubescentia, 1.5 × 1 mm. *Petala* 4, anguste elliptica concava glandulosa glabra 6-8 × 2.5-3.5 mm. *Discus* cupularis. *Stamina* 8, filamentis subulatis, 3-4 mm. longis, glabris, antheris 1.5-1.8 × 0.8 mm. *Ovarium* subglobosum, 1-1.8 mm. in diam., glabrum 4-loculare, stylo 2-2.5 mm. longo puberulo vel fere glabro.

Malange: Quela, *I. Nolde* 492 (BM, tipo).

Esta espécie pertence ao Subgen. *Afrocitrus* Swingle & M. Kell. e aproxima-se de *Citropsis Le-Testui* Pellegr., da qual difere (*ex descr.*) pelo raquis estreitamente alado (não alado em *C. Le-Testui*), pelas anteras menores e pelos pecíolos muito mais curtos.

Diphasia Noldeae Exell & Mendonça, sp. nov. (Rutaceae).

Arbor, ramulis primo fulvo-tomentosis. *Folia* juventute fulvo-tomentosa trifoliolata petiolata, petiolo ad 11 cm. longo fulvo-tomentoso, foliolis petiolulatis, petiolulo folioli terminali ad 2.5 cm. longo lateralium ad 1 cm. longo, lamina folioli terminalis anguste oblongo-elliptica, 24 × 7.5 cm., glanduloso--punctata apice acuminata margine integra basi acuta, costa

media supra pubescenti subtus prominenti tomentella, nervis lateralibus 12-14 paribus, supra fere glabra subtus pilosula, laminis foliolis lateralium similibus sed paullo minoribus. *Inflorescentiae* terminales rhachidibus fulvo-tomentosis. *Flores* ♂ desunt, ♀ sessiles. *Sepala* 4, ovata basi connata, 1.8 × 1.2 mm. *Petala* 4, late elliptica concava, 3 × 2.5 mm., glandulosa sparse pilosula. *Ovarium* depresse globosum 2-loculare dense fulvo-tomentosum, 1.8 × 1.2 mm., stylo brevissimo, stigma 4-lobato glabro, 1-8 mm. in diam.

Malange: Quela, alt. 1200 m., *I. Nolde* 525 (BM, tipo). «Baum. Kronblatter gelblich-weiss. Bluten 2-hausig. Regenwald».

Difere de *D. angolensis* (Hiern) Verdoorn pelas flores sésseis e pelas folhas maiores e mais densamente tomentosas.

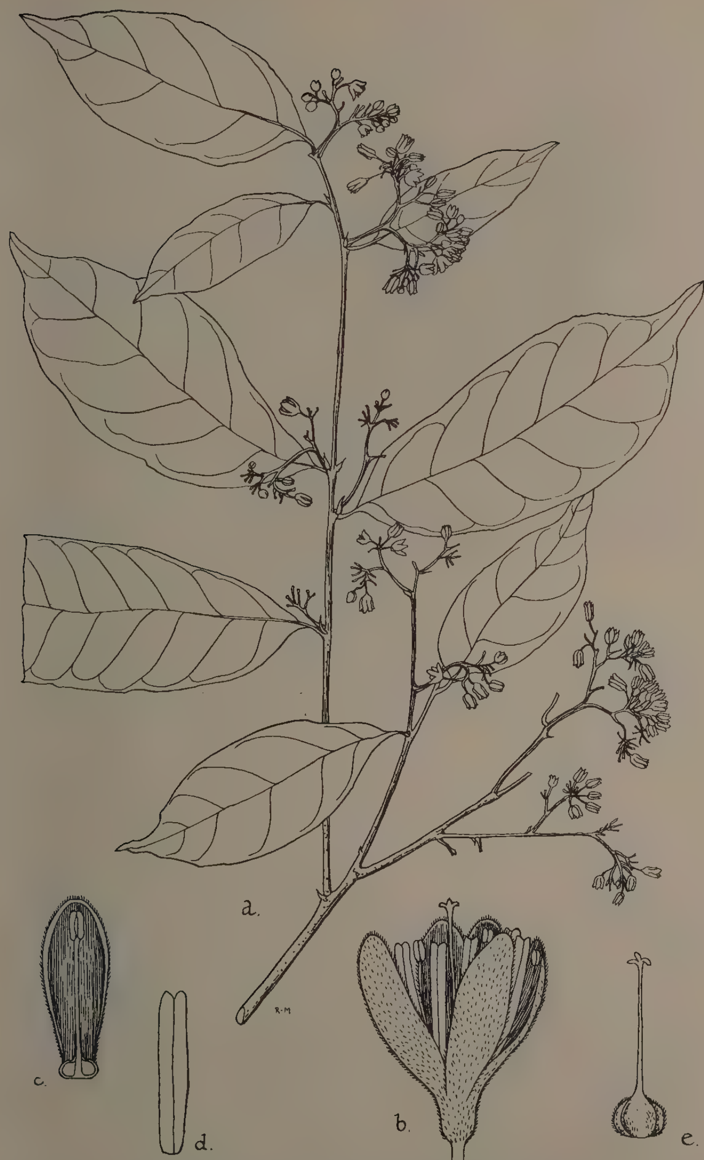
Dichapetalum cazengoense Exell & Mendonça, sp. nov. (Chailletiaceae) Tab. II.

Frutex 2-3 m. altus, ramulis primo minute appresse-pubescentibus mox glabrescentibus. *Folia* petiolata, petiolo 5-6 mm. longo, stipulis subulatis 6 mm. longis, lamina chartacea oblongo-elliptica, 7-14 × 2-6.5 cm., omnino glabrescenti nitidula, costis lateralibus 6-8 paribus subtus prominulis. *Flores* pedicellati, pedicello 2.5-3 mm. longo fulvo-tomentello, in cymas axillares pedunculatas 3-5 cm. longas dispositi. *Sepala* oblonga, 5 × 1.8 mm., omnino fulvo-tomentella basi breviter connata. *Petala* ligulata, 5 × 1 mm., apice breviter bifida glabra. *Stamina* libera, filamentis 4 mm. longis, antheris oblongis, 0.6 × 0.4 mm. *Ovarium* superum subglobosum tomentosum, 1 × 1 mm., stylo 4.5 mm. longo apice trifido. *Fructus* ignotus.

Cuanza Norte: Cazengo, entre Monte Belo e Queta, prox. de Monte Lau, *Gossweiler* 1641 (BM, tipo; Coi).

Arbusto com hastes ascendentes; altura total 3 m.; flores álbidas. Habita na orla da floresta.

Esta espécie parece relacionada com *D. venenatum* Engl. & Gilg, da qual difere nìtidamente pelas flores menores e pétalas menos profundamente bilobadas. A sua posição na classificação



Dichapetalum cazengoense EXELL & MENDONÇA.
a) Ramo frutífero (×½). b) Flor (×5). c) Sépala e estame (×5).
d) Pétala (×5). e) Gineceu (×5).

proposta por ENGLER é duvidosa, porque não tem estreita semelhança com as outras espécies de pétalas pouco profundamente incisas no ápice.

Olax Gossweileri EXELL & MENDONÇA, sp. nov. (Olacaceae).

Frutex deciduus vel *arbor* parva, 5 m. alta, ramulis glabris cortice rugoso. *Folia* breviter petiolata vel subsessilia, lamina chartacea ovata vel lanceolata, apice acute vel subrotundata vix acuminata basi acuta obtusa vel rotundata, 3-7.5 × 2-4 cm., omnino glabra, costa media supra inconspicua subtus prominula, costis lateralibus 6-7 paribus vix conspicuis. *Flores* pedicellati, pedicello 1.5-2 mm. longo basi articulato, rhachide 1-3 cm. longo quadrangulato glabro. *Calyx* cupuliformis 1.8--1.9 mm. in diam. glaber. *Petala* 3, spathulato-lineari-oblonga, 7 × 1.5-2 mm., glabra. *Stamina* fertilia 3, epipetala, antheris oblongis, 1-5 mm. longis, filamentis ligulatis, 1 mm. longis, staminodiis 3 (nonnunquam 2) anguste linearibus apice bifidis, 4 mm. longis. *Ovarium* anguste pyramidatum, 2 × 1.5 mm., glabrum, stylo 1.2-1.5 mm. longo, glabro.

BIÉ: rio Cuchi, fl. Set. 1905, *Gossweiler* 2239 (BM, tipo); Ganguelas, Dongo, Cuelai, fl. Abr. 1906, *Gossweiler* 2682 (BM).

Esta espécie aproxima-se de *O. obtusifolia* De Wild., da qual difere pelo estilete mais curto, estigma menor e folhas mais espessas.

DIOGOA EXELL & MENDONÇA, gen. nov. (Olacaceae) Tab. III.

Calyx parvus pentamerus. *Petala* 5 valvata glabra. *Stamina* 5 epipetala, connectivo ad petalum haud adnato antheris liberis. *Ovarium* fere superum usque ad apicem 5-loculare. *Fructus* subglobosus medio anguste circumcarinatus.

Tipo: ***Diogoa Zenkeri*** (Engl.) Exell & Mendonça, comb. nov.; *Strombosiopsis Zenkeri* Engl., Bot. Jahrb. XLIII: 168 (1908); *Strombosia retivenia* S. Moore in Journ. of Bot. LVIII: 223 (1920); *Strombosia majuscula* S. Moore, *op. cit.*: 224 (1920).

As duas espécies até agora incluidas no género *Strombosiopsis* Engl., nomeadamente *S. tetramera* Engl. e *S. Zenkeri* Engl., diferem entre si tão fundamentalmente que não parece

conveniente manter no mesmo género elementos tão diversos. Louis e Léonard [Fl. Cong. Belg. & Ruanda-Urundi I: 271 (1948)] indicam claramente as diferenças entre as duas espécies e o desenho de *S. Zenkeri* publicado naquela obra (tab. 26) pode ser comparado com o dado por Engler [Notizbl. Königl. Bot. Gart. & Mus. Berl.-Dahl. V, App. XXI. 1: fig. p. 6 (1909)].

As diferenças principais entre os dois géneros são:

STROMBOSIOPSIS	DIOGOA
Cortice resinoso	Cortice não resinoso
Flores tetrâmeras	Flores pentâmeras
Conectivo da antera parcialmente adnado à pétala, apiculado	Antera livre, conectivo não apiculado
Ovário semi-ínfero	Ovário quase súpero
Fruto quase completamente envolvido pelo receptáculo adnado, liso	Fruto envolvido até meio pelo receptáculo acrescente e circum-alado pela margem proeminente deste

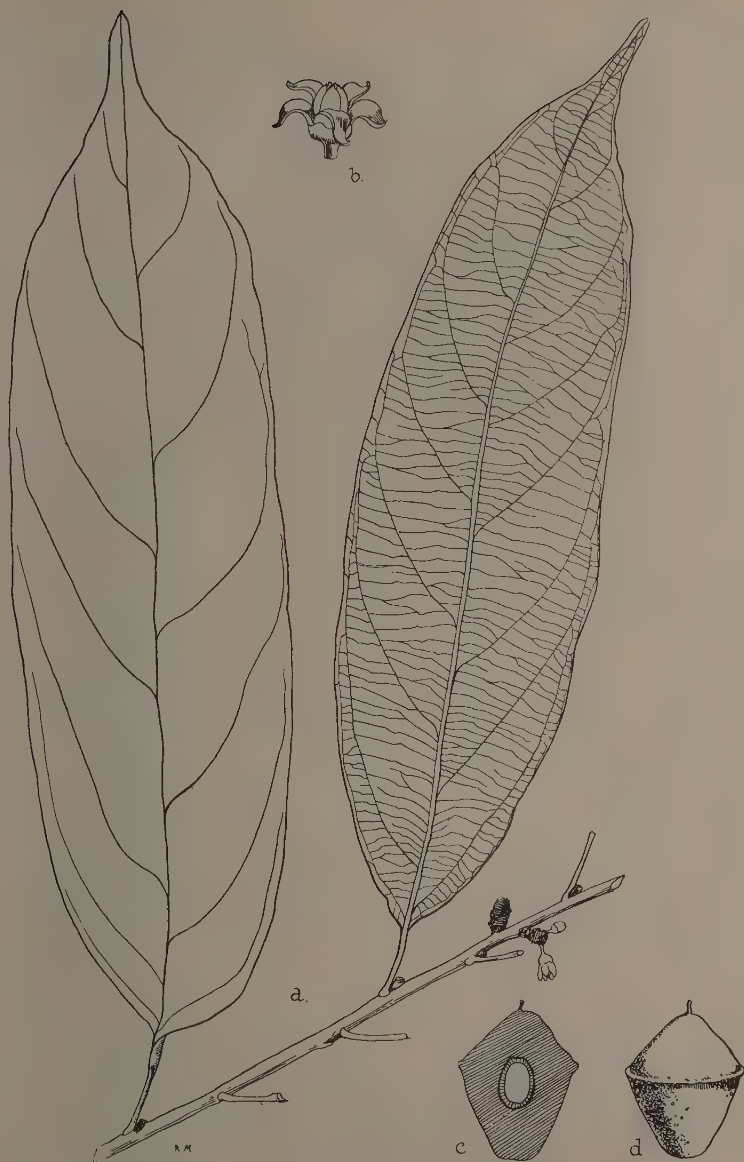
A asa estreita ou ruga circundante da região equatorial do fruto tem sido objecto de várias interpretações. Parece que o ovário começa por ser quase súpero e que o receptáculo é acrescente na maturação. A asa estreita representa a linha de inserção inicial do cálice e da corola. Precisa-se material conservado em álcool para fazer um exame minucioso.

Em nosso entender haveria dois caminhos lógicos a seguir: um, o de assimilar *Strombosia* e *Strombosiopsis* em um único género de larga concepção; outro, o de separar três géneros. Preferimos a última solução, pelo menos até a eventual descoberta de espécies intermediárias.

O nome genérico, *Diogoa*, é dado em consagração da memória de Diogo Cão, o navegador quinhentista, descobridor do rio Zaire (= Congo), na sua viagem de 1482-4.

Opilia angolensis Exell & Mendonça, sp. nov. (Opiliaceae).

Frutex deciduus, ramulis contortis glabris. *Folia* carnosula, breviter petiolata, petiolo 1-2 mm. longo, glabro, lamina ovata vel suborbiculare, usque 5×4 cm., apice rotundata basi truncata in petiolum decurrente, fere glabra. *Alabastrum* floriferum, amnentaceum, 3×2 mm., glabrum. *Flores* (immaturi) pedicel-



Diogoa Zenkeri (Engl.) EXELL & MENDONÇA.

a) Ramo frutífero (×1/2). b) Flor (×1). c) Secção vertical do fruto (×1). d) Fruto (×1).

lati, pedicello 2 mm. longo, in racemos breves dispositi. *Calyx* obsoletus. *Petala* 5, suborbicularia, 2×2 mm. *Stamina* 5, filamentis 0.8 mm. longis, antheris globosis, 0.4 mm. in diam. *Ovarium* valde immaturum, disco glandulis 5 staminibus alternantibus composito. *Fructus* ignotus.

Mossâmedes: base da Serra da Chela, entre Quitive e Bumbo, *Welwitsch* 468 (BM; Lis. U, tipo).

Arbusto erecto do mato xerófilo.

Opilia celtidifolia (Guill. & Perr.) Endl. ex Walp., a única outra espécie proveniente de Angola, largamente dispersa nas savanas de África tropical, é um arbusto escandente com folhas estreitamente elípticas até duas vezes mais compridas que as de *O. angolensis* e com inflorescências alongadas muito mais compridas.

Infelizmente os espécimes de *Welwitsch* têm inflorescências muito imaturas. A folha do exemplar do herbário da Universidade de Lisboa, que escolhemos para tipo, tem algumas flores suficientemente desenvolvidas para se ver a estrutura.

Quatro espécimes de *Gossweiler*, 9188 (BM; Coi; Lis. JC.), 9197 (Coi), 9197 a (BM) e 10079 (BM; Coi), todos provenientes do mato xerófilo das proximidades de Catete (Cuanza Norte), com folhas muito caducas e flores mal conservadas, representam talvez uma outra espécie nova deste género. Da única flor que se encontrava em condições de se verem minudências estruturais, tivemos a impressão de que as pétalas são mais compridas e relativamente mais estreitas, e também os filetes mais compridos que no espécime de *Welwitsch*.

NEOSTACHYANTHUS Exell & Mendonça, nom. nov. (Icacinaceae).

Stachyanthus Engl. in Engl. & Plantl, Nat. Pflanzenfam. Nachtr. II-IV: 227 non *Stachyanthus* DC. (1836).

Tipo: ***Neostachyanthus Zenkeri*** (Engl.) Exell & Mendonça, comb. nov.

Stachyanthus Zenkeri Engl., *loc. cit.*

Stachyanthus obovatus S. Moore in Journ. of Bot. LVIII: 222 (1920).

Desde a Nigéria até ao Maiombe.

Há duas outras espécies deste género:

Neostachyanthus nigeriensis (S. Moore) Exell & Mendonça, comb. nov.

Stachyanthus nigeriensis S. Moore, *tom. cit.*: 221 (1920).

Neostachyanthus cuneatus (Engl.) Exell & Mendonça, comb. nov.

Stachyanthus cuneatus Engl., Pflanzenw. Afr. III, 2: 263 (1921). — Sleumer in Notizbl. Bot. Gart. & Mus. Berl.-Dahl. XV: 255 (1940).

SUR LA PHYLOGÉNIE DES ESPÈCES DU GENRE *NARCISSUS* L.

par

A. FERNANDES
(Institut Botanique de l'Université de Coimbra, Portugal)

Reçu le 15 mai 1951.

INTRODUCTION

En 1930, nous avons entrepris l'étude du genre *Narcissus* L. aux points de vue caryologique, de la morphologie externe et de la répartition géographique, convaincus de que la combinaison de ces études pourrait contribuer à l'éclaircissement des relations phylogénétiques des espèces, et, par conséquent, à l'établissement de la classification naturelle du groupe. Étant donné que, pour arriver à ce but, il a fallu rassembler toutes les espèces et faire leur étude, le travail a avancé assez lentement, mais nous avons publié les résultats de nos recherches partielles au fur et à mesure que certains sous-groupes ont été étudiés (Fernandes, 1934, 1937 *a*, *b*, 1939 *a*, *b*, 1940, 1943, 1949 *b*; Fernandes et Fernandes, 1946).

À présent, des représentants de toutes les espèces linnéennes ont été examinés, et, par ce fait, le moment est venu de présenter une vue d'ensemble des conclusions de nos recherches. Dans ce but, nous avons élaboré un diagramme (Pl. I), où sont montrées les relations de parenté des espèces qui nous semblent les plus probables d'après nos études. Dans ce travail, nous analyserons tout d'abord les raisons que nous ont amené à concevoir les rapports montrés sur le diagramme, et, ensuite, nous envisagerons les problèmes de la nature et de l'importance des processus qui ont agi et agissent encore dans l'évolution du genre. Nous terminerons en discutant les relations entre la caryologie et la systématique dans ce groupe et en proposant une nouvelle classification du genre.

L'ESPÈCE ANCESTRALE

Chez le genre *Narcissus* L., on trouve une série aneuploïde de nombres chromosomiques, constituée par les chiffres 7, 10, 11, 13, 15 et 25, dont les trois premiers nombres sont des chiffres de base d'autant de séries polyploïdes. Il est à remarquer que tandis que la garniture des espèces aux chiffres 7 et 13 est constituée surtout par des chromosomes hétérobrachiaux et isobrachiaux (v. FERNANDES, 1934, 1939 *a*, *b*, 1943 et 1949 *b*; FERNANDES et NEVES, 1941; FERNANDES et FERNANDES, 1946), les espèces aux chiffres 10 et 11 présentent des garnitures où les chromosomes céphalobrachiaux dominent (v. FERNANDES, 1934, 1937 *b*, 1940, 1943) et une espèce à $n = 15$ possède une garniture se composant de chromosomes isobrachiaux, hétérobrachiaux et céphalobrachiaux (FERNANDES, 1943). Il y a donc chez le genre *Narcissus* L. trois caryotypes distincts: le premier correspondant aux espèces *N. rupicola* Duf., *N. scaberulus* Henriq., *N. calcicola* Mendonça, *N. Watieri* Maire, *N. juncifolius* Lag., *N. gaditanus* Boiss. et Reut., *N. minutiflorus* Willk., *N. Jonquilla* L., *N. jonquilloides* Willk., *N. Fernandesii* Pedro, *N. viridiflorus* Schousb., *N. triandrus* L., *N. Pseudo-Narcissus* L., *N. asturiensis* Pugsley, *N. cyclamineus* DC., *N. minor* L., *N. odorus* L., *N. poeticus* L., *N. gracilis* Sabine, *N. incomparabilis* Mill. et *N. Bulbocodium* L.; le deuxième aux espèces *N. elegans* Spach, *N. Tazetta* L. et *N. Broussonetii* Lag.; et le troisième à *N. serotinus* L.

L'existence de ces caryotypes pourrait amener à penser que le genre a eu une origine biphylétique. Les caractères de la morphologie externe, la facilité d'hybridation de *N. Tazetta* L. avec les espèces à $x = 7$ et le comportement méiotique de *N. Poetaz* « Alsace », hybride d'espèces appartenant aux deux premiers caryotypes, qui montre que, probablement, tous les 7 chromosomes de la garniture de *N. poeticus* L. peuvent s'apparier avec des chromosomes de *N. Tazetta* L. (v. FERNANDES, 1950), ne s'accordent pas avec cette hypothèse. D'autre part, un examen attentif des idiogrammes montre qu'il y a chez les espèces à $x = 10$ et 11 des types chromosomiques semblables à ceux existant chez les espèces à $x = 7$ et on peut constater même que la garniture de *N. serotinus* L. (v. FERNANDES, 1943) est

intermédiaire entre les deux autres caryotypes. Ces faits montrent donc *que le genre a eu une origine monophylétique.*

Une fois cette conclusion acquise, une autre question doit se poser. Quel est le nombre de base primaire du genre ?

Dans des travaux antérieurs (FERNANDES et NEVES, 1941; FERNANDES, 1943), nous avons montré que les chiffres 13 et 15 ont été secondairement dérivés de 7 et que le nombre 25, trouvé chez *N. dubius* Gouan, a été engendré par l'hybridation d'une forme tétraploïde de *N. juncifolius* Lag. (28 chromosomes) et d'une forme diploïde de *N. Tazetta* L. (22 chromosomes), suivie de duplication chromosomique (FERNANDES, 1937 *a*). En ce qui concerne les chiffres 10 et 11, on constate qu'il existe un rapport assez étroit entre eux, puisqu'on trouve chez une même espèce (*N. Tazetta* L.) des formes à 10 et d'autres à 11 chromosomes. D'autre part, on peut remarquer que les garnitures de ces deux groupes de formes sont constituées par des chromosomes ayant beaucoup de ressemblances. Il est donc probable que ces deux chiffres aient eu une origine commune, ou bien qu'un d'eux ait donné naissance à l'autre. Pour ces raisons, nous pourrons considérer ces deux nombres comme un seul, qui sera désigné par 11(10). De cette façon et étant donné que 10 est multiple de 5, la discussion pourra se borner aux nombres 5, 7 et 11(10). Donc, dans le but de résoudre la question du nombre de base primaire du genre, trois hypothèses peuvent être envisagées:

1) *Le chiffre 11(10) est primitif et aurait engendré le nombre 7.*

Par le fait que 11(10) est le nombre de base le plus fréquent chez la famille des Amaryllidacées, qu'on trouve parmi les espèces de *Narcissus* à $x = 11(10)$ des formes possédant des caractères qui peuvent être considérés comme primitifs (couronne rudimentaire chez *N. Broussonetii* Lag. et petite chez *N. elegans* Spach) et que quelques-unes des espèces de ce groupe possèdent des aires géographiques relativement vastes (*N. Tazetta* L. et *N. elegans* Spach), il semble que cette hypothèse doit être la plus probable. Cependant, contre cette conjecture militent les faits suivants:

a) La dérivation de la garniture des espèces à 7 chromosomes à partir de celle des espèces à $x = 11(10)$ exige l'admission d'une suite d'événements (translocations qui ont rendu plus longs les bras courts de trois chromosomes ; translocations qui ont donné naissance à trois chromosomes appartenant à des types tout à fait différents de ceux existant chez les espèces à $x = 11(10)$; et élimination soit de 4 soit de 3 centromères) aussi complexe que l'hypothèse ne peut pas être considérée comme probable ;

b) Les espèces à $x = 11(10)$ sont constituées par des plantes dont la morphologie externe indique une constitution polyploïde (plantes vigoureuses, à bulbes volumineux, à feuilles longues et larges et à inflorescences pourvues de nombreuses fleurs), tandis que les individus de la plupart des espèces à $x = 7$ présentent des caractères de diploïdes ;

c) Le nombre des espèces à $x = 11(10)$ est très petit relativement à celui des espèces à $x = 7$;

d) La forme des chromosomes et le cours de la méiose (Fernandes, 1937 *b*, 1950), montrent que dans les garnitures haploïdes des espèces à $x = 11(10)$ il y a répétition de quelques chromosomes (l'homologie de ces éléments, si elle n'est pas complète, est tout au moins partielle), tandis que les garnitures des espèces à $x = 7$ ne montrent pas de trace de l'existence de chromosomes répétés, puisqu'elles présentent toujours une méiose régulière avec la formation de 7 bivalents ;

e) *N. serotinus* L., dont la garniture diploïde se compose de 30 chromosomes, n'est pas un triploïde. D'après la morphologie des chromosomes et le cours de la méiose, cette espèce est très probablement un hiper-tétraploïde dérivé d'une forme à $x = 7$ (v. Fernandes, 1943) ;

f) Les garnitures des espèces à $x = 11(10)$ sont constituées surtout par des chromosomes hétérobrachiaux à bras courts assez petits et par des chromosomes céphalobrachiaux, c'est-à-dire par des types plus hautement différenciés (Lewitsky, 1931 ; Levan, 1935 ; Babcock, Stebbins et Jenkins, 1937 ; Babcock, 1947 ; etc.) que ceux qui composent les garnitures des espèces à $x = 7$.

2) *Le chiffre 11(10) est dérivé de celui d'une forme ancestrale à x = 5, qui a engendré aussi le nombre 7.*

D'après cette hypothèse, les formes à $x = 10$ seraient des tétraploïdes et celles à $x = 11$ des hiper-tétraploïdes. Les espèces à $x = 7$ pourraient avoir été engendrées soit par la duplication de deux chromosomes, soit au moyen du clivage transversal des centromères de deux chromosomes.

En opposition avec cette hypothèse, nous pourrons présenter les objections suivantes:

a) Malgré une étude intensive, nous n'avons trouvé jusqu'à présent aucune forme à 2n = 10;

b) La morphologie des chromosomes somatiques des formes à 2n = 20, bien qu'elle révèle l'existence de deux paires de certains types, ne montre pas qu'on puisse attribuer aux garnitures une constitution vraiment tétraploïde;

c) Le cours de la méiose chez *N. Poetaz* « Alsace » (FERNANDES, 1950) ne permet pas non plus attribuer à la garniture de *N. Tazetta* L. une constitution tétraploïde;

d) L'apparition de trivalents et de tétravalents chez les espèces à 2n = 20, 21 et 22 est assez rare;

e) Le polymorphisme caryologique mis en évidence par la comparaison des garnitures des formes à 20, 21 et 22 chromosomes n'est pas facile à expliquer;

f) Dans les garnitures des formes à $x = 11(10)$, il y a prédominance de chromosomes céphalobrachiaux, tandis que l'hypothèse exige prédominance de chromosomes hétérobrachiaux à bras courts relativement longs.

3) *Le chiffre 11(10) aurait été directement dérivé de 7.*

La dérivation postulée par cette hypothèse pourrait avoir eu lieu d'après les deux procédés suivants:

a) Clivage transversal des centromères de trois chromosomes de la garniture de la forme ancestrale, suivi de petites translocations qui ont rendu ces centromères sub-terminaux;

b) La forme ancestrale à 7 chromosomes aurait donné naissance à des triploïdes. Au moyen de la conjugaison des gamètes formés en plus grande quantité par ces formes (gamètes à 10 et à 11 chromosomes), d'autres formes à 2n = 20, 21

et 22 auraient été engendrées. Étant donné le fait que, chez les Narcisses, la pollinisation est croisée, les trois garnitures du triploïde pourraient présenter des différences structurelles. De nouvelles altérations de la même nature pourraient apparaître dans le triploïde lui-même, et, par suite de toutes ces altérations, le triploïde pourrait être amené à produire des gamètes ayant une constitution génétique voisine de celle de l'état triploïde, et une garniture dont les éléments s'accoupleraient par paires le plus souvent pendant la méiose. Au moyen de ce mécanisme, les nombres 10 et 11 auraient pu s'établir (Fernandes, 1937 *b*).

D'accord avec le premier point de vue se trouve le fait qu'il y a, dans la garniture de *N. Tazetta* L., deux paires de chromosomes longs et quatre paires de chromosomes courts pourvus de centromères subterminaux, les plus longs pouvant correspondre aux bras longs et les courts aux bras courts des chromosomes qui ont subi la division transversale des centromères (v. Fernandes, 1950). Cependant, le fait qu'il y a dans la garniture *Tazetta* des chromosomes répétés (si l'homologie de ces éléments n'est pas complète, elle est tout au moins partielle), comme l'étude de la méiose chez *N. Poetaz* « Alsace » l'a montré (Fernandes, 1950), ne s'accorde pas avec l'idée de considérer la garniture de *N. Tazetta* L. dérivée de celle d'une forme ancestrale par division transversale des centromères de trois chromosomes. Par contre, l'existence de chromosomes répétés dans la garniture *Tazetta* s'accorde très bien avec le deuxième point de vue, c'est-à-dire avec l'idée de considérer la garniture des formes à 11(10) chromosomes dérivée d'une forme triploïde de l'espèce ancestrale à $x = 7$. Cette hypothèse permet encore d'expliquer les faits suivants:

a) L'extraordinaire polymorphisme morphologique de *N. Tazetta* L.;

b) Le polymorphisme caryologique trouvé aussi chez *N. Tazetta* L.;

c) Le comportement des chromosomes pendant la méiose des formes de *N. Tazetta* L. à $2n = 22$ que nous avons rapporté dans un travail antérieur (Fernandes, 1937 *b*).

Étant donné l'explication satisfaisante de tous ces faits, nous croyons pouvoir considérer comme démontrée l'hypothèse que le nombre 11(10) a été dérivé de 7, par suite d'altérations

structurelles survenues chez une forme triploïde de l'espèce ancestrale du genre.

De cette façon, nous sommes amenés à conclure *que le nombre de base primaire du genre* Narcissus *est 7 et que, par conséquent, la garniture haploïde de l'espèce ancestrale devrait se composer de 7 chromosomes.*

Du point de vue écologique, on constate qu'aux espèces du genre *Narcissus* correspondent quatre *habitats* principaux : fentes des rochers des montagnes plus ou moins élevées où quelque humus s'est accumulé ; prairies des montagnes ; prairies des plaines plus ou moins écartées de la mer ; et prairies et sables des régions côtières.

Il est à remarquer que la plupart des espèces diploïdes et les formes diploïdes des espèces où l'existence de polyploïdie a été reconnue croîssent surtout dans les montagnes, soit seulement dans les fissures des rochers ou des cailloux (*N. rupicola* Duf., *N. scaberulus* Henriq., *N. calcicola* Mendonça, etc.), soit simultanément dans les fentes des rochers ou des cailloux et dans les prairies des montagnes (*N. Jonquilla* L., *N. triandrus* L., *N. juncifolius* Lag. et *N. Bulbocodium* L.), soit seulement dans les prairies des régions montagneuses (*N. Pseudo-Narcissus* L. et *N. poeticus* L.). Par contre, on constate que la plupart des plantes croissant dans les prairies et dans les sables des régions côtières correspondent à des espèces ayant une constitution polyploïde (*N. serotinus* L., *N. Tazetta* L., *N. Broussonetii* Lag., *N. elegans* Spach et *N. viridiflorus* Schousb.) ou à des formes polyploïdes dont les diploïdes respectifs croîssent en général dans les montagnes (*N. Bulbocodium* L.).

L'évidence semble donc indiquer l'évolution suivante : fentes des rochers → prairies des régions montagneuses → prairies des régions plaines → prairies et sables des régions côtières. *L'espèce ancestrale du genre devrait certainement croître dans les fentes des rochers des montagnes.* De ce point de vue, l'espèce ancestrale serait donc comparable à *N. rupicola* Duf., *N. scaberulus* Henriq. et *N. calcicola* Mendonça. Il est à remarquer que ces espèces, en même temps qu'elles présentent des caractères primitifs du point de vue écologique, appartiennent à un sous-groupe de la section *Jonquilleae* DC. (v. Fernandes, 1939 *b*)

qui peut être considéré primitif en ce qui concerne la répartition géographique (aire disjointe assez étendue, depuis le Grand Atlas jusqu'aux montagnes de la province de Léon et du nord du Portugal) et quelques caractères de la morphologie externe (feuilles étroites et fleurs jaunes peu odorantes). Il est à remarquer de plus que l'idiogramme des espèces de ce sous-groupe, correspondant à la formule 2 LL + 4 Ll + 2 Lp + 2 ll + 2 lp + 2 Pp', possède les caractères les plus primitifs du genre (FERNANDES, 1939*b*). De cette façon, *il est très probable que l'espèce ancestrale ait été pourvue d'une garniture chromosomique semblable à celle qu'on trouve à présent chez ces espèces de la section* Jonquilleae *DC.*

L'étude de la répartition géographique montre que la plupart des espèces du genre (v. FERNANDES, 1939 *b*) possèdent des représentants dans les montagnes comprises entre les détroits Bétique et Sud-Rifain. On constate aussi que quelques espèces se trouvent simultanément de part et d'autre de la Méditerranée (*N. Bulbocodium* L., *N. serotinus* L., *N. elegans* Spach, *N. Tazetta* L., *N. rupicola* Duf. et *N. viridiflorus* Schousb.).

Il est donc presque certain que le centre d'origine et de dispersion du genre Narcissus *L. ait été la région qui a été jadis constituée par une partie du sud-est de l'Espagne et la région correspondant à la partie la plus occidentale de la Méditerranée actuelle reliée au nord de l'Afrique.*

Les recherches paléogéographiques (v. FERNANDES, 1943) ont montré qu'au pleistocène la Méditerranée était probablement divisée en deux mers intérieures, par le fait que deux liaisons existaient entre l'Europe et le nord de l'Afrique. Une de ces liaisons était celle que nous considérons comme correspondant au centre de dispersion des Narcisses, tandis que l'autre était constituée par l'Italie, la Sicile, Malte, nord de la Tunisie et les régions intermédiaires aujourd'hui effondrées sous les eaux de la Méditerranée.

Étant donné que *N. serotinus* L., *N. Tazetta* L. et *N. elegans* Spach se trouvent en Sicile et dans le sud et l'ouest de l'Italie, il est évident que ces espèces ont dû avoir gagné ces régions en peuplant la dernière liaison. De cette façon, nous devrons *considérer très probable que l'espèce ancestrale ait fait son apparition au commencement du Quaternaire.*

Du point de vue morphologique, cette forme ancestrale serait une petite plante bulbeuse, croissant dans les fissures des rochers où quelque humus s'est accumulé, à feuilles étroites, vertes, étalées, à hampe florale cylindrique, à ombelle pluriflore et à fleurs pédonculées, petites, jaunes, non-odorantes, à tube relativement large, à couronne rudimentaire et à étamines libres égales ou sub-égales.

Après avoir peuplé les montagnes qu'au commencement du Quaternaire reliaient l'Espagne au Maroc et probablement aussi les régions limitrophes, cette forme, d'une façon presque explosive, a engendré d'autres qui sont devenues, respectivement, les souches des sections *Jonquilleae* DC., *Serotini* Parl., *Hermione* (Salisb.) Spreng., *Helena* (Haw.) Aschers. et Graebn. et *Ganymedes* Schult. f. et des sous-genres *Ajax* Spach et *Corbularia* (Salisb.) Pax, tandis qu'elle disparaissait.

Voyons maintenant l'histoire probable de chacun de ces groupes, en tenant compte des données apportées par la caryologie, la morphologie externe et la répartition géographique (voir toujours le diagramme de la Pl. I).

SOUS-GENRE *EUNARCISSUS* PAX

Section *Jonquilleae* DC.

Probablement au bord de son aire, l'espèce ancestrale aurait engendré *N. rupicola* Duf., espèce qui présenterait, par rapport à la première, des fleurs solitaires, sessiles ou brièvement pédonculées, plus grandes, légèrement odorantes, à couronne plus développée et aux filets inégaux, disposés en deux rangs superposés. Les différences pourraient bien avoir été engendrées par mutation de quelques gènes et elles auraient rendu la nouvelle espèce mieux adaptée, par le fait que sa reproduction aurait été devenue plus assurée. De cette façon, *N. rupicola* Duf., croissant, comme la forme ancestrale, dans les fissures des rochers, a élargi rapidement son aire vers le nord et vers le sud, de telle façon qu'au moment de l'ouverture du détroit de Gibraltar, il occupait déjà une aire qui lui a permis de persister dans les montagnes du sud d'Espagne

et du nord du Maroc, tandis que l'espèce primitive serait partiellement détruite. L'aire de *N. rupicola* Duf. aurait ainsi été divisée en deux parties par l'ouverture du détroit de Gibraltar et chacune de ces deux aires va maintenant s'élargir. En Afrique, *N. rupicola* Duf. a avancé vers le sud-ouest jusqu'à gagner le Grand Atlas. Là, peut-être au bord de son aire de distribution, il a engendré, probablement par mutation de gènes, la var. *Marvieri* Jah. et Maire qui, à son tour, par mutation des gènes contrôlant la production des pigments jaunes de la fleur, a engendré *N. Watieri* Maire, à fleur blanche (fig. 1).

En Espagne, *N. rupicola* Duf. a avancé surtout vers le nord-ouest et ainsi, après avoir occupé le massif de la Sierra Mágina, il s'est installé dans les montagnes de la Nouvelle-Castille et de l'Estrémadure espagnole et, de là, il a continué, en gagnant les montagnes du sud de la Vieille-Castille, de Léon et ceux du centre et du nord du Portugal (fig. 1).

Après avoir traversé l'Estrémadure espagnole et l'Alentejo, *N. rupicola* Duf. a engendré, sur le bord occidental de son aire, probablement aussi par mutations de gènes, le *N. calcicola* Mendonça, qui a réussi à s'installer dans la Serra d'Arrábida (1), au sud du Tage, et dans le massif de Mira d'Aire, au nord de ce fleuve (fig. 1).

D'autre part, en descendant des montagnes de la région centrale du Portugal, *N. rupicola* Duf. a engendré, probablement par mutation de gènes aussi, le *N. scaberulus* Henriq., qui s'est installé dans la région granitique d'Oliveira do Hospital et d'Oliveira do Conde (fig. 1).

---

(1) La remarquable découverte de *N. calcicola* Mendonça dans la Serra d'Arrábida est toute récente et elle a été faite par M. le Ing. A. R. Pinto da Silva, Estação Agronómica Nacional, Sacavém, qui a bien voulu nous informer qu'il a herborisée cette espèce, pour la première fois, au mois janvier 1949, dans une prairie située d'un et d'autre côté de la route qui mène au Portinho et au Couvent. Ensuite, pendant la même excursion, il a rencontré la même espèce croissant dans les fentes des rochers calcaires de la Serra de S. Luís. En 1951, finalement, Bento Rainha a herborisé aussi *N. calcicola* dans un endroit voisin de la première localité.

Nous remercions vivement M. le Ing. A. R. Pinto da Silva pour tous ces renseignementes, ainsi que pour l'envoi de quelques bulbes qui nous ont permis de faire l'étude caryologique. Cette étude nous a montré que les plantes de la Serra d'Arrábida possèdent des garnitures semblables à celles des plantes de Mira d'Aire.

Les déductions que nous venons de faire son pleinement justifiées, par le fait que *N. Watieri* Maire, *N. scaberulus* Henriq. et *N. calcicola* Mendonça sont assez voisins de *N.*



Fig. 1. — Carte montrant la répartition géographique de *N. rupicola* Duf., *N. rupicola* Duf. var. *Marvieri* Jah. et Maire, *N. Watieri* Maire, *N. scaberulus* Henriq. et *N. calcicola* Mendonça. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

rupicola Duf. soit du point de vue de la morphologie externe, soit du point de vue caryologique (existence d'idiogrammes semblables chez toutes ces espèces).

La forme ancestrale, par suite d'altérations structurelles

(v. FERNANDES, 1939 *b*) accompagnées probablement de mutations de gènes, parmi lesquelles on doit compter une qui a provoqué

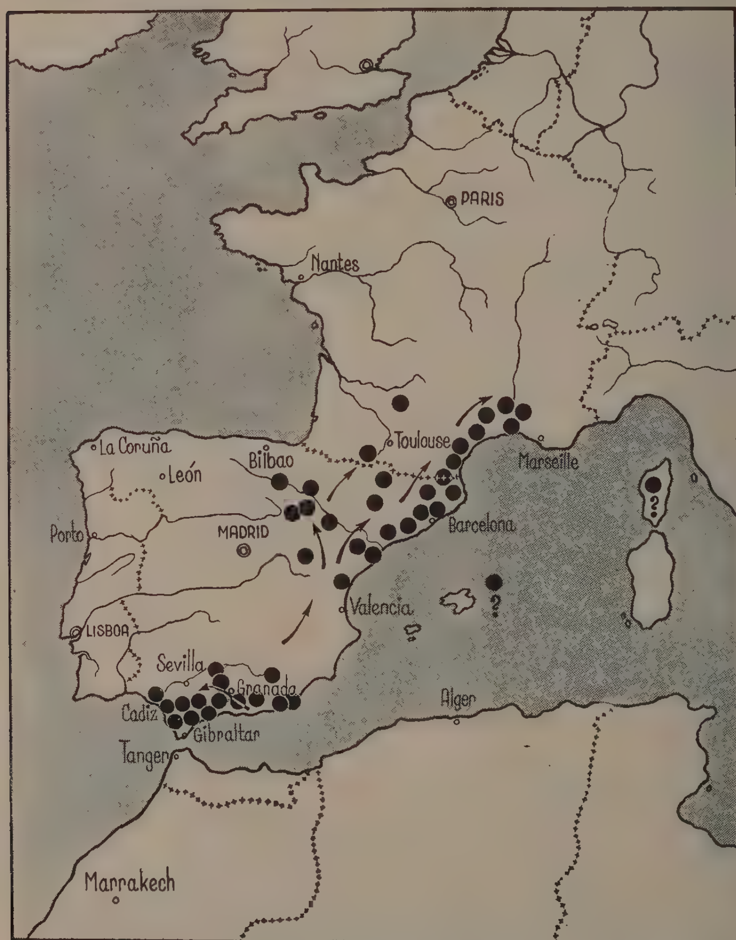


Fig. 2. — Aire géographique de *N. juncifolius* Lag. Les endroits cités pour Menorque et Corse sont douteux. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

la diminution de la longueur des chromosomes, a engendré une autre espèce, *N. juncifolius* Lag., qui, étant pourvue d'une

ombelle pluriflore, à fleurs intensément jaunes et très odorantes, a élargi rapidement son aire. Du fait que *N. juncifolius* Lag. ne se trouve pas en Afrique du Nord, il est probable que cette espéce se soit différenciée à l'endroit le plus avancé vers le nord-est de l'aire de l'espèce primitive, probablement dans la région de Grenade. À partir de cette région, *N. juncifolius* Lag. a gagné d'autres contrées (fig. 2): 1) tout d'abord, il a avancé vers le nord et le nord-ouest, en occupant la Catalogne, l'Aragon et le sud de la Navarre; ensuite, il a traversé les Pyrénées et il a gagné le midi de la France, en même temps qu'il a avancé aussi un peu vers le nord dans ce pays; 2) au sud, dans la province de Grenade, il a avancé vers l'ouest, en gagnant Cordoue et la côte atlantique de l'Andalousie, à Puerto Real et Sanlúcar de Barrameda.

Pendant ses migrations *N. juncifolius* Lag. a engendré des formes tétraploïdes. Une de ces formes a rencontré sur sa route, probablement au nord de la province de Valence, une forme de *N. Tazetta* L. à $2n = 22$. Par l'hybridation de ces deux formes, suivie de duplication chromosomique, une nouvelle espèce, *N. dubius* Gouan, à $2n = 50$, a pris naissance (1). Cet hybride, devenu stable et fertile par suite de la duplication chromosomique, a avancé (fig. 3) vers le nord et le nord-ouest, a dépassé les Pyrénées et a gagné le midi de la France. Dans la zone côtière de la Catalogne, *N. dubius* Gouan s'est croisé à nouveau avec *N. juncifolius* Lag., en engendrant *N. Pujolii* Font-Quer.

En descendant des montagnes de la province de Grenade vers le littoral, *N. juncifolius* Lag., peut-être par perte d'un segment chromosomique, a engendré *N. gaditanus* Boiss. et Reut. qui a avancé vers l'ouest à travers la région côtière de

(1) Par le fait que des formes tétraploïdes de *N. juncifolius* Lag. n'ont pas encore été trouvées à l'état spontané, nous pourrons encore supposer que le croisement dont *N. dubius* Gouan a été issu a eu lieu entre un gamète non-réduit produit par une forme diploïde de *N. juncifolius* Lag. et un gamète normal de *N. Tazetta* L. à $n = 11$. Cependant, étant donné le fait que des formes tétraploïdes se forment assez souvent à l'état spontané chez presque toutes les espèces de *Narcissus*, nous croyons plus probable la première hypothèse, qui admet l'existence de formes tétraploïdes de *N. juncifolius* Lag. à l'état spontané.

l'Atlantique, en gagnant presque l'extrémité sud-ouest de la Péninsule Ibérique (fig. 4). La forme dont *N. gaditanus* Boiss, et Reut. est issue aurait engendré aussi *N. minutiflorus* Willk., qui croît à peu près dans la même aire de *N. gaditanus* Boiss. et Reut. (fig. 4).



Fig. 3. — Aire géographique de *N. dubius* Gouan. Les flèches indiquent la direction de la migration.

Il nous semble légitime tirer ces conclusions, puisque *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et *N. minutiflorus* Willk. sont assez voisins de *N. juncifolius* Lag. en ce qui concerne les caractères de la morphologie externe, ils occupent le bord de l'aire de l'espèce considérée comme parente et ils possèdent des idiogrammes que ne diffèrent de celui de *N. juncifolius* Lag. que dans une paire chromosomique, qui est du type Pp'

chez *N. juncifolius* Lag. et du type P. chez *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et *N. minutiflorus* Willk. (pour une discussion plus détaillée voir FERNANDES, 1939 *b*).

Par suite d'altérations géniques provoquées par des translocations (v. FERNANDES, 1939 *b*) et probablemente aussi par



Fig. 4.— Aires géographiques de *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et *N. minutiflorus* Willk. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

l'action de mutations factorielles, l'espèce ancestrale aurait engendré une forme qui a donné naissance au *N. Jonquilla* L., qui, au moment des effondrements de la Méditerranée occidentale, croissait déjà dans les montagnes de la côte de l'Espagne actuelle. Alors commencent ses migrations (fig. 5): 1) vers le nord, pour gagner tout d'abord Valence et ensuite la Catalogne et les montagnes voisines des sources du Douro ; 2)

des sources du Douro vers l'ouest, le long du lit du fleuve, pour gagner le Portugal à Barca d'Alva, Freixo de Espada à Cinta, Pocinho et Pinhão ; 3) vers le nord-ouest, pour gagner les monts des alentours de Toledo et la Sierra de Guadalupe ; 4)



Fig. 5.— Carte montrant la répartition géographique de *N. Jonquilla* L., *N. Jonquilla* L. var. *Henriquesii* Samp. et *N. Fernandesii* Pedro. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

de ces régions vers l'ouest le long du lit du Tage ; 5) vers le sud-ouest, en descendant les montagnes de la province de Grenade, pour conquérir une partie intérieure de la province de l'Andalousie et la zone côtière comprise entre Gibraltar et Sanlúcar de Barrameda.

Il est à remarquer que les migrations vers le sud-ouest et l'ouest ont suivi le cours des fleuves Guadalquivir, Tage et Douro et qu'au Portugal l'espèce ne se trouve que croissant dans les fissures des cailloux des lits et des rives des fleuves. Il semble donc que le transport des bulbes et probablement des graines par les eaux joue un rôle assez important en ce qui concerne la dissémination de cette espèce.

Vers le bord ouest de l'aire située au sud du Tage (fig. 5), *N. Jonquilla* L. a engendré la variété *Henriquesii* Samp. (Castelo de Vide et Torrão) et, en descendant le long du lit du Tage, il a donné naissance, probablement par l'inactivation de quelques gènes (FERNANDES, non publié), à une autre espèce, *N. Fernandesii* Pedro, qu'on a trouvé récemment à Samora Correia (PEDRO, 1947).

En descendant vers le littoral atlantique d'Espagne, *N. Jonquilla* L. a probablement engendré des formes tétraploïdes, grâce auxquelles il a réussi à croître dans la région côtière. Ces formes tétraploïdes ont alors trouvé sur leur route, probablement dans la région délimitée par une ligne reliant Cádiz, Sevilla, Grazalema, Medina-Sidonia, Chiclana, Cádiz, *N. gaditanus* Boiss. et Reut. avec lequel elles se sont croisées. De ce croisement (1), une nouvelle espèce à 2n — 21, *N. jonquilloides* Willk., est née. Cette espèce, accompagnée de *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et de *N. minutiflorus* Willk., a avancé après à travers la région littorale du sud de l'Andalousie et du Portugal (fig. 6) presque jusqu'à gagner le Cap St. Vincent (v. FERNANDES, 1939 *a*).

S'avoisinant de la région où aujourd'hui se place Gibraltar, l'ancêtre de *N. Jonquilla* L. a engendré un tétraploïde qui est devenu le *N. viridiflorus* Schousb., puisque l'idiogramme de cette espèce correspond à la duplication de celui de *N. Jonquilla* L.

---

(1) Comme pour *N. dubius* Gouan, nous pourrions supposer, par le fait que nous n'avons pas trouvé jusqu'à présent des formes tétraploïdes de *N. Jonquilla* L. à l'état spontané, que *N. jonquilloides* Willk. a été issu du croisement d'un gamète non-réduit de *N. Jonquilla* L. avec un gamète haploïde de *N. gaditanus* Boiss. et Reut. Cependant, nous croyons que des formes tétraploïdes de *N. Jonquilla* L. existent à l'état spontané et, par conséquent, que la première hypothèse est la plus probable.

Cette nouvelle espèce, formée peut-être peu de temps avant l'ouverture du détroit de Gibraltar, a avancé surtout vers le sud, le long de la côte atlantique africaine. Après l'ouverture du détroit de Gibraltar, *N. viridiflorus* Schousb. a poursuivi sa progression dans cette même direction, en occupant la zone

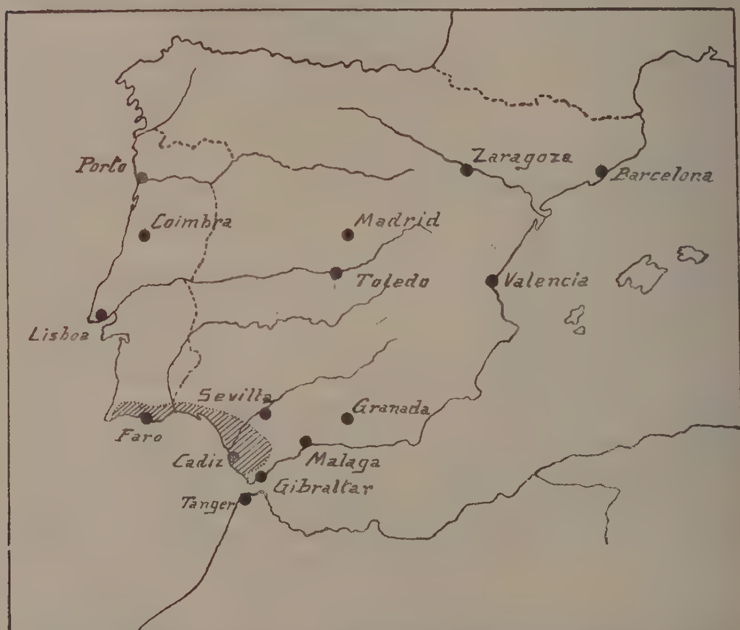


Fig. 6.— Aire géographique de *N. jonquilloides* Willk. La migration a eu lieu le long de la région côtière, depuis la région voisine de Cádiz jusqu'au Cap St. Vincent.

côtière jusqu'au Cap Cantin. Simultanément, il a réussi à peupler la région littorale méditerranéenne nouvellement formée de la péninsule des Djabala, tandis qu'en Espagne son aire, constituée par la région de Gibraltar et ses alentours, est restée sans s'agrandir d'une façon sensible (fig. 7).

N. intermedius Lois. possède 17 chromosomes somatiques et ce nombre, ainsi que la morphologie des chromosomes (v. Fernandes, 1934), montrent, en toute évidence, qu'il s'agit d'un

hybride de *N. Tazetta* L. et *N. Jonquilla* L., d'accord avec les points de vue de Bowles (1934).

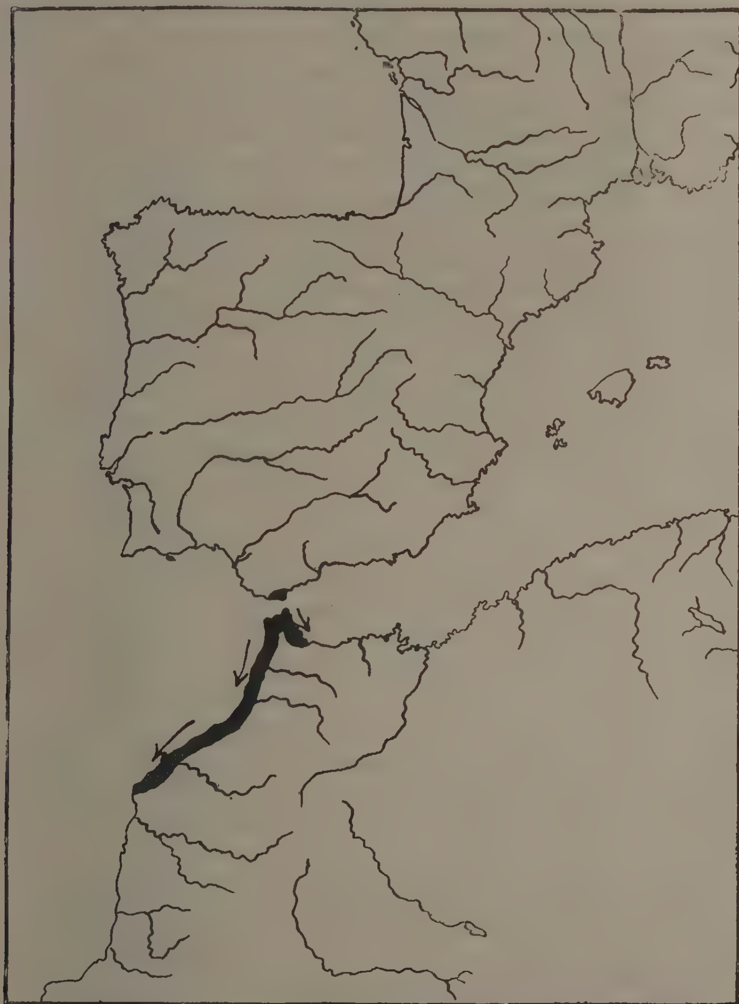


Fig. 7.— Aire géographique de *N. viridiflorus* Schousb. Les flèches indiquent les directions des migrations.

On a signalé l'existence de ce Narcisse à l'état spontané aux localités suivantes : Catalogne : Cadaqués, aux alentours du Cap

de Nordfeo (Baker, 1888; Colmeiro, 1889; Willkomm, 1893; Lázaro é Ibiza, 1906; Cadevall, 1933); Portugal (1): Póvoa de Lanhoso (Colmeiro, 1889); France: alentours de Bayonne et de Dax dans les Basses-Pyrénées, et environs de Menton dans les Alpes-Maritimes (Rouy, 1912; Bowles, 1934); Italie: Pegli en Ligure (Fiori et Paoletti, 1896-1898; Bowles, 1934). On constate que, parmi les localités mentionnées, les deux parents de *N. intermedius* Lois. ne se trouvent ensemble à l'état spontané qu'en Catalogne. De cette façon, si *N. intermedius* Lois. a été engendré à l'état spontané et non dans quelque jardin (la deuxième possibilité nous semble la plus vraisemblable), il est probable que l'endroit de naissance de cet hybride ait été la région côtière de cette province espagnole. Par le fait que *N. intermedius* Lois. n'est pas fertile, nous ne croyons pas probable que l'hybride ait émigré jusqu'aux Basses-Pyrénées d'un côté et jusqu'à Ligure de l'autre. Il nous semble plus raisonnable considérer les autres localités comme des endroits où *N. intermedius* Lois. s'est naturalisé à partir de plantes cultivées dans des jardins.

Section *Ganymedes* (Salisb.) Schult. f.

Par suite d'altérations provoquées par des réarrangements chromosomiques, parmi lesquels on doit vraisemblablement compter des translocations et des pertes de segments, compensées probablement par des duplications, et par suite aussi de l'accumulation de mutations de gènes, l'espèce ancestrale aurait engendré une nouvelle forme, *N. triandrus* L., qui a conservé des feuilles et des hampes comparables à ceux de

(1) L'exemplaire cité pour le Portugal existe à l'herbier de l'Université de Coimbra, mais il correspond certainement à une plante cultivée, puisque, depuis sa récolte, personne (nous-même aussi) n'a trouvé *N. intermedius* Lois. à Póvoa de Lanhoso, soit comme plante spontanée, soit comme plante naturalisée.

Vasconcellos (1940) rapporte l'existence de *N. intermedius* Lois. à Barca d'Alva, croissant sur les rives du Douro, dans des conditions tout à fait spontanées. Cependant, l'examen d'échantillons provenant de cette même localité et qui nous ont été aimablement envoyés par la «Missão do Estudo Fitogeográfico da Região Duriense», nous a montré qu'il s'agit de *N. Jonquilla* L.

leur ancêtre, en même temps qu'elle aurait acquis des caractères nouveaux : tube du périgone longuement cylindrique élargi supérieurement, divisions périgonales réfléchies, couronne assez développée et étamines aux filets soudés au tube du périgone et disposées en deux verticilles superposés.

Après sa différenciation, qui aurait eu probablement lieu dans les montagnes de la province de Grenade après l'engloutissement des terres correspondant à la Méditerranée occidentale actuelle, la nouvelle forme aurait donné naissance à des descendants qui auraient émigré vers l'ouest, le nord-ouest et le nord de la Péninsule Ibérique, en gagnant tout d'abord la Sierra Morena et les montagnes de la région de Jaen. En poursuivant les migrations, ils auraient avancé vers l'ouest et le nord-ouest, à travers l'Estrémadure espagnole, la Nouvelle-Castille, la Vieille-Castille et Léon, pour gagner la région du Portugal située à peu prés au nord du parallèle de Setúbal, la Galice et les Asturies. En continuant à avancer vers le nord, ils auraient peuplé Valence, la Catalogne et l'Aragon, pour arriver aux Pyrénées (fig. 8).

Il est à remarquer que les descendants de la souche des *Ganymedes* (fig. 8) se trouvent aussi aux Iles Glénans (île du Loch, île de Drenec et île Saint-Nicolas), situées sur la côte sud-ouest du département du Finistère, au large de Concarneau, à 15 ou 20 km. de la côte (v. Chevalier, 1924).

Il est très difficile de résoudre la question si le Narcisse des Iles Glénans y est spontané ou s'il y a été introduit. En discutant le problème, Chevalier dit le suivant : « ... Des arguments peuvent être donnés en faveur de l'une et l'autre hypothèse. La plante a l'apparence d'une plante indigène : les bancs sableux couverts d'humus, revêtus d'un tapis herbeux, sont sa station de prédilection ; sous le climat des Glénans elle se multiplie bien et la rapidité avec laquelle elle a envahi les champs abandonnés en est la preuve ; ce serait une station relique. C'est une espèce atlantique et il existe divers exemples de ces plantes à aire disjointe, spontanées depuis au moins la fin du quaternaire à la fois en Espagne et dans le sous-secteur ligéro-armoricain. Plusieurs de ces espèces occidentales ont une aire bien disjointe et leur présence, spécialement dans les îles, peut s'expliquer par l'isolement des flores insulaires comme

l'a établi A. R. Wallace (*Island life*, 2e éd., London, 1895). C'est en outre une espèce pure ou plutôt un jordanon d'allure



Fig. 8.— Carte montrant la répartition géographique de *N. triandrus* L. *sensu amplo*. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

paléoendémémique et l'on sait que l'homme cultive surtout des néoformes hybrides dont la descendance est souvent variable même quand la plante retourne à l'état sauvage.

« Par contre, d'autres faits militent en faveur d'une intro-

duction ancienne. La plupart des espèces de Narcisses ont été cultivées depuis les temps les plus reculés ; certaines formes du groupe *Ganymedes* répandues à l'Ouest de la Péninsule Ibérique l'ont été certainement et l'on sait que depuis l'époque phénicienne et peut-être avant, des rapports constants ont existé par la mer entre les côtes d'Espagne et les îles bretonnes (insulæ veneticæ de Pline). Le *Narcissus reflexus* a donc pu être apporté involontairement d'Espagne ou même être planté comme l'a été le *Smyrnium olusatrum* abondamment cultivé à l'époque romaine et jusqu'au Moyen-Age et qui s'est naturalisé à l'île Saint-Nicolas où il est commun près des ruines d'habitations. Le Narcisse se serait répandu d'abord aux alentours des maisons et ensuite dans les jachères et les prés de l'archipel. On sait que divers Narcisses des herbages de l'Ouest (*N. poeticus, N. incomparabilis, N. biflorus*) ont une origine analogue ». (Chevalier, *l. c.*, p. 544-545).

Étant données les migrations des *Ganymedes* et qu'aucun représentant de ce groupe n'existe sur la côte atlantique de la France, nous ne pourrons expliquer la spontanéité du Narcisse des Iles Glénans qu'en admettant que, à une époque non très éloignée, la côte française du Golfe de Gascogne, comprise entre Hendaye et le Finistère, s'avançait dans la mer sur une distance de quelques dizaines de kilomètres. Dans ces conditions, le Narcisse aurait avancé du nord d'Espagne à travers l'ancienne côte française jusqu'à gagner le Finistère. Ensuite, l'ennoyement de la plupart de la région côtière aurait eu lieu, en restant seulement quelques îles, parmi lesquelles seules les Glénans auraient conservé le Narcisse.

Bien qu'il y a des preuves que l'engloutissement dans la mer de quelques terres de l'extrémité du Finistère a eu lieu (v. Chevalier, 1924), l'absence de tout représentant des *Ganymedes* dans toutes les îles situées au sud des Glénans, dont quelques-unes possèdent des surfaces relativement considérables (île d'Oléron, île de Rè, île d'Yeu, île de Noirmoutier, Belle Ile et île de Groix) ne s'accorde pas très bien avec cette hypothèse, bien que nous pourrions admettre que l'engloutissement des terres a produit des conditions spéciales qui ont amené à la disparition du Narcisse dans ces îles.

Le fait qu'on ne trouve pas à présent des îles le long de

la côte entre Hendaye et l'embouchure de la Gironde met en doute que les terres émergées que notre hypothèse exige auraient existé. Par ce fait et étant donné que le groupe *Ganymedes* doit être récent et que les populations des Iles Glénans doivent avoir été issues d'un petit nombre de plantes (par le fait que ce Narcisse se multiplie surtout par des graines, la multiplication végétative ne pourra pas être invoquée pour expliquer l'uniformité des populations), nous croyons plus probable que le Narcisse des Iles Glénans y ait été introduit par l'action, soit consciente, soit inconsciente, de l'homme, à partir de plantes croissant dans le nord ou le nord-ouest d'Espagne (1).

Pendant leurs migrations, les descendants de la souche des *Ganymedes* ont engendré plusieurs formes: var. *concolor* (Haw.) Baker, var. *pulchellus* (Salisb.) Baker, var. *Loiseleurii* Rouy et var. *albus* (Haw.) Baker (v. Fernandes, 1949 *b*), qui peuvent être rassemblées dans l'espèce linnéenne *N. triandrus* L.

La carte de la répartition géographique (fig. 9) montre que la var. *concolor* croît dans le sud et le centre de la Péninsule Ibérique, tandis que la var. *cernuus* occupe la région située à peu près au nord du parallèle de Madrid. Étant donné que le centre de dispersion du genre *Narcissus* correspond à la région qui a été jadis constituée par une partie du sud-est d'Espagne et la région correspondant à la partie la plus occidentale de la Méditerranée actuelle reliée au nord d'Afrique, il est probable que la forme la plus ancienne soit la var. *concolor*. D'accord avec ce point de vue, se trouve le fait que cette variété possède des caractères qui peuvent être considérés comme primitifs dans le groupe: fleurs petites, jaunes, à couronne relativement courte.

Malheureusement, nous ne connaissons pas encore la génétique de la couleur des fleurs des *Ganymedes*. Cependant, nous croyons probable que cette couleur soit dans la dépendance

(1) Il y a dans le nord-ouest d'Espagne (Sierra del Suido, en Galice) des plantes de la var. *cernuus* (Salisb.) Baker qui s'avoisinent considérablement du Narcisse des Iles Glénans (var. *Loiseleurii* Rouy) en ce qui concerne la taille des fleurs. Étant donné que le Narcisse des Iles Glénans est surtout caractérisé par les grandes dimensions des fleurs, il semble que l'introduction de la plante dans ces îles pourrait avoir été consciente, l'introducteur ayant choisi, dans le nord d'Espagne, précisément les échantillons qu'il a considéré les plus beaux d'après la plus grande taille des fleurs.

d'un système de gènes, où il faut distinguer des facteurs contrôlant la couleur des divisions périgonales et d'autres celle de la couronne. De cette façon, par mutation de quelques-uns de ces gènes, la var. *concolor* aurait engendré, d'un côté, la



Fig. 9.— Carte de la Péninsule Ibérique, montrant la répartition de *N. triandrus* L. var. *concolor* (Haw.) Baker et *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker.

var. *cernuus*, pourvue de fleurs concolores d'un jaune-soufre, et, de l'autre, la var. *pulchellus*, à couronne plus pâle que les divisions périgonales.

Par suite de la ségrégation d'hétérozygotes, la var. *cernuus* aurait donné naissance à plusieurs formes, ce qui donnerai

l'explication du fait de la variabilité de la couleur des fleurs depuis le jaune jusqu'au pâle-blanchâtre.

Par suite de la ségrégation des mêmes formes hétérozygotes, des homozygotes récessifs, dépourvus de la capacité d'élaborer le pigment des fleurs, auraient été engendrés. Ces formes auraient constitué la var. *albus* (Haw.) Baker.

Outre la var. *albus* (Haw.) Baker, la var. *cernuus* (Salisb.) Baker aurait engendré encore la var. *Loiseleurii* Rouy, caractéristique des Iles Glénans. La différenciation de cette variété aurait eu lieu dans le nord-ouest de la Péninsule Ibérique, très probablement en Galice, à partir d'une forme à fleur presque blanche, qui aurait donné naissance à des plantes pourvues de fleurs grandes, à hétérostylie dimorphe.

L'accroissement des dimensions de la fleur pourrait avoir été provoqué par mutation de gènes ou, plus probablement, par suite de duplications géniques. En ce qui concerne la conversion de l'hétérostylie trimorphe en dimorphe, deux hypothéses peuvent être suggérées :

1) Chevalier (1924) remarque que les populations du Narcisse des Iles Glénans sont très uniformes, puisque « les caractères sont aussi constants que si tous les individus étaient les descendants d'une lignée pure ». (Chevalier, *l. c.*, p. 548). D'après cette observation, nous pourrions supposer que toutes les plantes des Iles Glénans sont les descendants d'un petit nombre d'individus, parmi lesquels se trouveraient seulement des formes, probablement dolichostylées et brachystylées, possédant une constitution génétique de telle sorte que les combinaisons de leurs gamètes n'engendreraient jamais de formes médiostylées ;

2) Probablement par mutation d'un gène associé avec le facteur ou les facteurs déterminants du caractère médiostylé, les combinaisons d'où les formes médiostylées devraient être issues ont été devenues léthales.

Les formes de *N. triandrus* L. s'hybrident facilement avec les autres espèces du genre et ces hybridations ont souvent lieu dans les conditions naturelles. Par suite de ces hybridations, de nouvelles formes ont été engendrées: *N. Johnstonii* Pugsley, provenant du croisement d'une forme tétraploïde de *N. Pseudo*

Narcissus L. et d'une forme diploïde de *N. triandrus* L. var. *cernuus* (v. Fernandes, 1945; Fernandes et Fernandes, 1946), et *N. Taitii* Henriq., issu probablement de l'hybridation de deux formes diploïdes de *N. Pseudo-Narcissus* L. et *N. triandrus* L. var. *cernuus* (v. Fernandes, 1945; Fernandes et Fernandes, 1946). Un hybride de *N. triandrus* L. var. *cernuus* et *N. Bulbocodium* L. a été aussi trouvé à la Serra do Gerês (Fernandes, 1933, 1934). Ce même hybride a été aussi trouvé par Rozeira (communication verbale) dans d'autres localités du nord du Portugal.

Il est à remarquer que, contrairement à ce qui arrive chez la plupart des espèces du genre, nous n'avons trouvé aucune plante polyploïde chez les populations de *N. triandrus* L. que nous avons étudié. L'absence de polyploïdie explique peut-être le manque d'aptitudes écologiques de l'espèce qui ne croît que dans un nombre assez limité de milieux.

Section *Serotini* Parl.

N. serotinus L. possède 30 chromosomes somatiques et, en mettant de côté quelques irrégularités peu fréquentes, parmi lesquelles on compte la formation de ponts et de retardataires, nous pourrons dire que la méiose découle d'une façon normale, avec la formation presque constante de 15 bivalents. Ce fait montre tout de suite que cette espèce ne peut pas être considérée comme un triploïde à nombre de base 10. D'autre part, on constate que *N. serotinus* L. ne pourra non plus être considéré comme un hexaploïde issu d'un ancêtre à $x = 5$, puisque nous n'avons jamais observé la formation de trivalents, tétravalents, pentavalents ou hexavalents et nous avons vérifié que les 30 chromosomes peuvent se grouper en 7 classes, correspondant chacune à des types bien définis (LL, Lp, L., ll, lm, P. et p.). On remarque de plus que le nombre de chromosomes de chaque type est de 4 pour les six premières classes et de 6 pour la dernière.

Étant donnés ces faits, l'existence dans la garniture de chromosomes céphalobrachiaux et l'apparition de phénomènes méiotiques qui révèlent l'existence d'appariement secondaire, d'inversions et peut-être d'autres altérations structurelles, nous

avons été amenés à penser que *N. serotinus* L. a eu l'origine suivante: — L'espèce ancestrale, probablement au moyen de la conjugaison de deux gamètes non-réduits issus de deux formes dont les garnitures chromosomiques différaient déjà au point de vue structurel, a engendré un tétraploïde. D'autres altérations structurelles, qui ont converti quelques chromosomes hétérobrachiaux en des types céphalobrachiaux, auraient amené à la diversification des garnitures, de telle façon que le tétraploïde aurait acquis une méiose presque régulière, avec la formation exclusive de bivalents (1). Ensuite, ce tétraploïde, par non-disjonction d'un chromosome p., aurait donné naissance au *N. serotinus* L. actuel (2).

Cette espèce, devenue plus résistante que toutes les autres, probablement à cause de sa polyploïdie, a réussi à s'installer sur les côtes maritimes. Par suite de sa résistance et par le fait que l'adaptation à la vie dans les régions littorales et voisines du littoral a été parfaite, *N. serotinus* L. a élargi son aire (fig. 10) d'une façon assez rapide. En Afrique du Nord, il a avancé rapidement vers l'est tout le long du littoral de la Méditerranée, en gagnant la région qui reliait autrefois l'Afrique du Nord à l'Italie. Sa persistance dans les îles Pantellaria, Malte et Sicile témoigne ce fait. Ensuite, il a avancé vers le nord, suivant la zone côtière occidentale de l'isthme italien. La progression vers le nord a continué, et *N. serotinus* L. a gagné le littoral de la péninsule qui serait formée par la réunion de la Sardaigne, de la Corse et des îles de l'archipel toscain avec l'Italie actuelle. Du côté oriental de l'isthme, *N. serotinus* L. a avancé aussi un peu vers le nord, en suivant la route côtière et, probablement à cause de l'existence d'une liaison entre l'Italie et la Péninsule des Balkans, peut-être à la latitude de Dinara,

(1) Nous pourrions penser aussi à l'action d'un gène qui empêcherait la formation d'associations supérieures à deux chromosomes.

(2) Par le fait qu'on trouve chez *N. serotinus* L. des chromosomes correspondant à des types caractéristiques des espèces à $x = 7$ et d'autres correspondant à des types existant chez les espèces à $x = 11 (10)$, nous pourrons encore supposer que cette espèce a été engendrée par la conjugaison d'un gamète normal d'une espèce du premier groupe avec un gamète à 8 chromosomes produit par la forme triploïde ancêtre des espèces du deuxième groupe, suivie de duplication chromosomique ($7 + 8 \times 2 = 30$). S'il en était ainsi, *N. serotinus* L. serait un amphidiploïde.

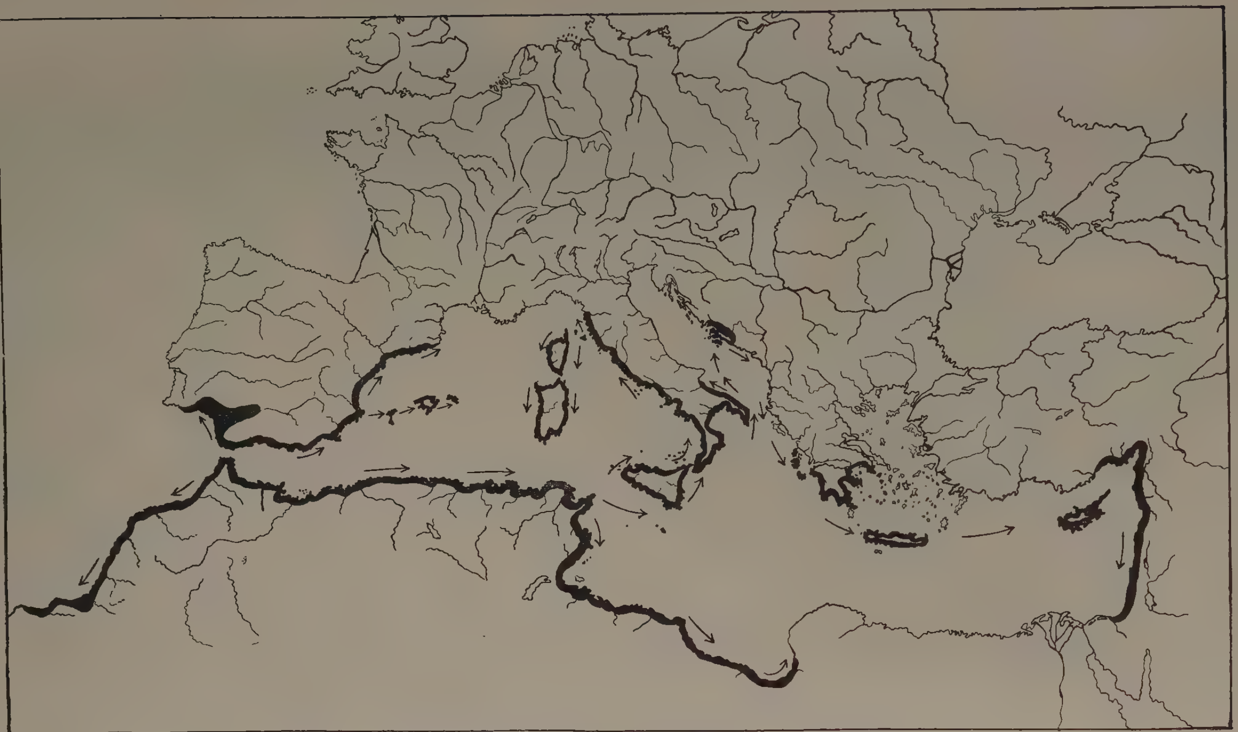


Fig. 10.— Aire géographique de *N. serotinus* L. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

il a réussi à s'installer dans le littoral balkanique. Une fois cette région conquise, il a avancé vers le sud, en gagnant la côte occidentale de la Grèce. Ensuite, il a progressé vers l'est, en terminant par occuper la partie restante du littoral de la Grèce et les côtes de l'Asie Mineure et de la Syrie, régions qu'à ce moment-là se trouveraient réunies aux îles grecques, à Crète et à Chypre, qui se seraient détachées plus tard. L'avance s'est poursuivie sur le pourtour de la mer, et l'espèce a terminé par peupler aussi le littoral de la Palestine.

Probablement après la rupture de la liaison entre la Tunisie et l'Italie et lorsque les côtes de l'Afrique du Nord sont devenues telles qu'elles sont aujourd'hui, *N. serotinus* L. a avancé aussi vers l'est, en suivant toujours la route côtière et, de cette façon, il a terminé par occuper le littoral de la Tunisie et de la Tripolitaine.

De son centre d'origine, *N. serotinus* L. a avancé aussi vers le sud, en suivant le littoral atlantique du Maroc. Cette progression semble, cependant, être plus lente, peut-être à cause du fait qu'il n'a pas trouvé sur le littoral atlantique des conditions de vie aussi favorables que celles qu'il a trouvé sur la zone côtière de la Méditerranée. Par le fait que les conditions du milieu ne lui ont pas été favorables, il a avancé lentement et n'est arrivé qu'à Ifni.

Avant l'ouverture du détroit de Gibraltar, *N. serotinus* L. a avancé en suivant deux directions sur le littoral de la Péninsule Ibérique. D'une part, il s'est répandu vers le nord, en occupant le littoral de la Méditerranée, y compris la péninsule dont les Iles Baléares représentent la partie non-immergée. D'autre part, il a avancé vers le sud-ouest, le long du littoral atlantique. Après la séparation des Baléares et l'ouverture du détroit de Gibraltar, ces deux directions de migration ont été maintenues, et *N. serotinus* L. a réussi à occuper vers le nord presque toute la côte méditerranéenne d'Espagne, et vers le sud-ouest à gagner l'Andalousie et une partie de la côte portugaise de l'Algarve.

N. serotinus L. n'a pas réussi jusqu'à présent à encercler complètement la Méditerranée, puisqu'il ne se trouve pas sur le littoral du midi de la France et n'est pas signalé en Lybie et en Egypte. Il est probable que l'encerclement soit devenu complet en peu de temps, puisque la direction des migrations

semble l'indiquer. En effet, vers le littoral du midi de la France deux courants se dirigent, venant, respectivement, le long de la côte espagnole et de la côte italienne. Finalement, deux courants se dirigent aussi vers l'Egypte, comme la carte de la figure 10 le montre.

Section *Hermione* (Salisb.) Spreng.

L'étude caryologique de cette section a révélé les faits suivants :

1) Existence des nombres de base 10 et 11 ;
2) Dominance dans les garnitures de chromosomes céphalobrachiaux ;
3) Formation occasionnelle de quelques tétravalents ;
4) Phénomènes d'autosyndèse entre des éléments de la garniture haploïde ;
5) Existence d'inversions dans les éléments des garnitures ;
6) Évidence d'autres altérations structurelles, particulièrement de translocations, subies par les chromosomes.

D'après ces faits, il est probable que cette section ait eu l'origine suivante :

L'espèce ancestrale à $x = 7$, probablement après avoir subi des altérations structurelles dans sa garniture, a donné naissance à une forme triploïde à $2n = 21$, engendrée soit par le croisement d'une forme tétraploïde (l'analogie de la garniture de *N. serotinus* L. avec celle des espèces de la section *Hermione* autorise à penser que cette forme pourrait avoir été l'ancêtre de *N. serotinus* L., comme nous l'avons suggéré en 1943) avec une autre diploïde, soit par la conjugaison d'un gamète non-réduit avec un gamète haploïde, produits tous les deux par une forme diploïde. Les chromosomes de cette forme triploïde ont subi aussi des altérations structurelles diverses (inversions, translocations, etc.) qui ont amené à la formation de nouveaux types chromosomiques, particulièrement des types céphalobrachiaux. Par suite de ces réarrangements chromosomiques, la forme triploïde, dont la persistance s'explique par la multiplication végétative, est devenue capable de former des gamètes à 10 et à 11 chromosomes, ayant la matière chromoso-

mique distribuée de telle façon que ces gamètes, en se fusionnant, ont engendré des plantes, possédant une constitution voisine de celle de la forme triploïde, dans lesquelles les 20 ou les 22 chromosomes de la garniture ont pu s'apparier deux à deux la plupart des fois pendant les divisions réductrices.

Étant donné que la forme triploïde se multiplierait par la formation de caïeux, elle aurait eu l'occasion de produire pendant le cours de sa vie plusieurs types de gamètes à 10 et à 11 chromosomes satisfaisant aux conditions ci-dessus mentionnées, et, par conséquent, elle aurait eu la possibilité d'engendrer plusieurs formes stables et fertiles.

Une de ces formes, produite par la conjugaison de deux gamètes à 10 chromosomes, serait *N. elegans* Spach, dont la différenciation a eu probablement lieu au bord sud de l'aire de son ancêtre, peut-être au Maroc Central, partie septentrionale, puisque cette espèce ne se trouvait pas encore dans la Péninsule Ibérique au moment de l'ouverture du détroit de Gibraltar. Une fois cette espèce apparue, elle a avancé (fig. 11) assez lentement vers le nord, en gagnant les bords du détroit de Gibraltar après son ouverture, et vers le sud jusqu'à Casablanca. Au contraire, elle a avancé d'une façon assez rapide vers l'est, suivant le littoral de l'Algérie et de la Tunisie. Cette avance a été tellement rapide, qu'elle a trouvé encore l'isthme reliant la Tunisie à l'Europe. Une fois installée dans cet isthme, elle a avancé vers le nord, en suivant surtout la côte occidentale, et elle a réussi à arriver à la péninsule constituée par les îles de l'archipel toscain, la Corse et la Sardaigne. *N. elegans* Spach a peuplé aussi le sud de la Péninsule Italienne, après quoi il s'est installé sur la côte adriatique de l'Italie, où il a avancé vers le nord. De la Tunisie, il a avancé aussi vers la Tripolitaine. Au Maroc, la ssp. *intermedius* Gay aurait engendré la var. *fallax* Font-Quer, par suite des altérations provoquées par l'apparition d'une inversion dans un des chromosomes lm (v. FERNANDES, 1943).

La forme triploïde aurait engendré aussi des formes de *N. Tazetta* L. à $2n = 20$ et ces formes auriont, à leur tour, donné naissance à d'autres secondairement triploïdes du nouveau nombre de base 10 ($2n = 30$). D'autre côté, la même souche, par fusion de gamètes à 11 chromosomes, aurait donné

naissance à une autre forme de *N. Tazetta* L. à 2n = 22, qui a été le point de départ des sous-espèces *papyraceus* (Ker-Gawl.) Baker, *Panizzianus* (Parl.) Baker, *pachybolbus* (Dur.) Baker, *polyanthus* (Lois.) Baker et *N. canariensis* (Herb.) Baker, c'est-à-dire les formes appartenant à la série *Tazettinae Albae* de Baker. Les formes à 2n = 22 ont donné naissance à d'autres

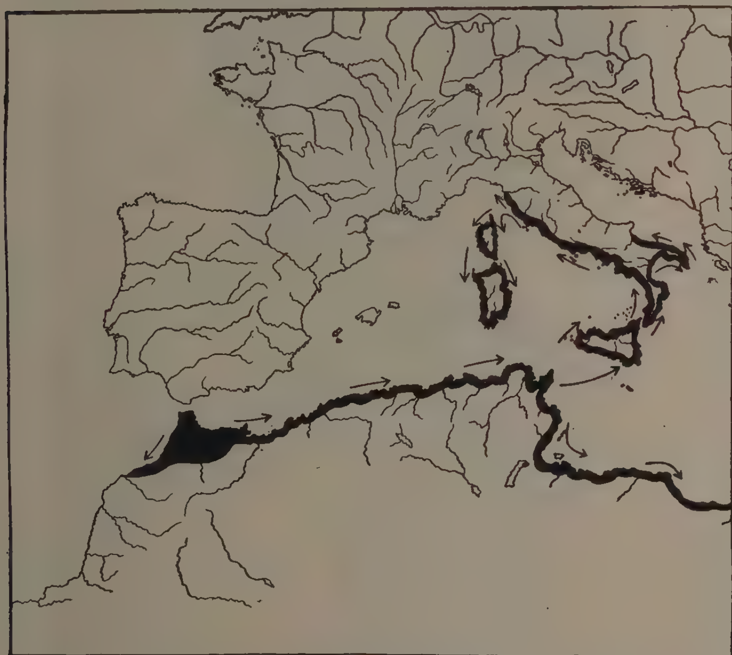


Fig. 11. — Aire géographique de *N. elegans* Spach. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

triploïdes (2n = 33). Se trouvant ensemble, les formes à 2n = 20 et à 2n = 22 se sont croisées en engendrant d'autres à 2n = 21, 2n = 31 et 2n = 32. Les premières auraient été engendrées par la conjugaison de deux gamètes haploïdes ; les deuxièmes par la fusion d'un gamète non-réduit de la forme à 2n = 20 avec un gamète haploïde de la forme à 2n = 22 ; et les troisièmes par la fusion d'un gamète non-réduit de la forme à 2n = 22 avec un gamète haploïde (n = 10) de l'autre parent.



Fig. 12.— Aire géographique de *N. Tazetta* L. *sensu amplo*. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

On comprend ainsi que *N. Tazetta* L. soit une espèce assez polymorphe au point de vue de la morphologie externe et que des types vigoureux et à capacités écologiques très différentes se soient formés. Ces faits expliquent donc que cette

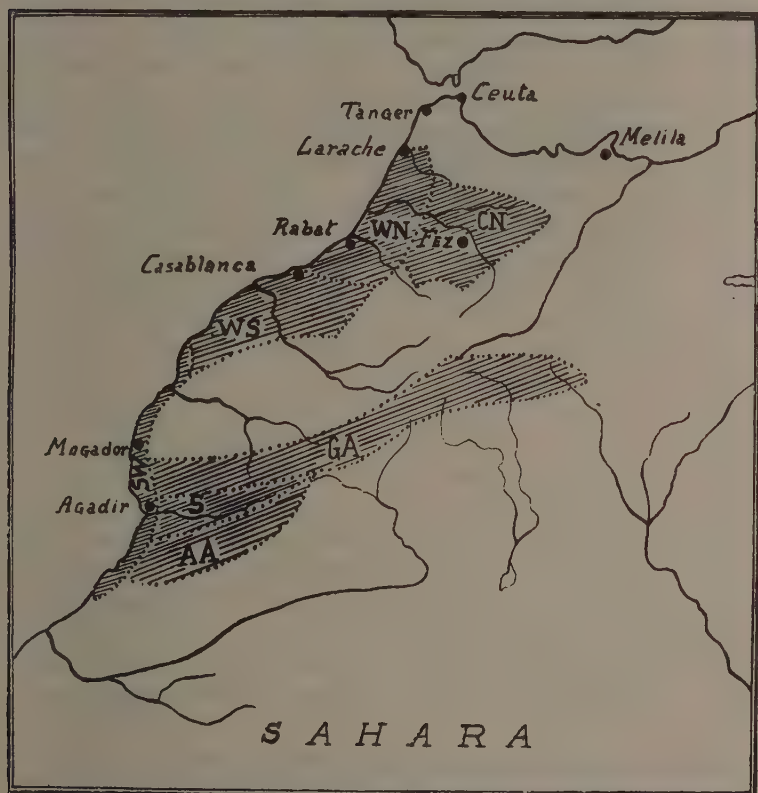


Fig. 13.— Aire géographique de *N. Broussonetii* Lag.

espèce ait une large aire géographique, comprenant les régions littorales du Portugal, d'Espagne, du sud-est de la France, d'Italie, de la Dalmatie, de la Grèce, d'Asie Mineure, de la Syrie, d'Afrique du Nord et des îles Canaries (fig. 12).

Étant donné que les formes de *N. Tazetta* L. sont des plantes très attractives et qu'elles sont assez souvent cultivées dans les jardins, il est probable que beaucoup de localités

correspondront à des endroits où les plantes ont été devenues subspontanées. À présent, il ne sera pas possible de distinguer les localités spontanées des subspontanées. Cependant, il nous semble que *N. Tazetta* L. doit être subspontané tout au moins en Perse, Cachemire, Chine et Japon et que son aire véritable doit correspondre seulement au bassin méditerranéen. De cette façon, ses migrations (fig. 12) doivent être comparables à celles de *N. serotinus* L., avec la différence que *N. Tazetta* L. a réussi à gagner les îles Canaries, à occuper une aire plus vaste dans la Péninsule Ibérique, à gagner le midi et le sud-ouest de la France, à occuper une aire plus vaste en Italie, etc.

La forme triploïde aurait aussi engendré *N. Broussonetii* Lag. à 22 chromosomes somatiques. Cette espèce s'est différenciée au Maroc et elle y a persistée, occupant à présent l'aire indiquée sur la carte de la figure 13. Les migrations semblent avoir eu lieu surtout du nord vers le sud et vers les régions côtières atlantiques.

Section *Helena* (Haw.) Aschrs. et Graebn.

Probablement par suite d'altérations provoquées par des translocations et par suite aussi de mutations factorielles, l'espèce ancestrale, qui était sur le point de disparaître, a engendré sur le bord le plus nord de son aire, probablement au sud de la province de la Catalogne, une nouvelle espèce pourvue de feuilles relativemente longues et larges, d'une seule fleur très odorante, à tépales d'un beau blanc, à couronne jaunâtre, courte, à marge ondulée-crénulée, crispée, bordée de rouge et aux étamines inégales avec les filets soudés au tube du périgone. Cette espèce était *N. poeticus* L. qui, une fois différencié, va escalader les hautes montagnes qui se présentent sur son front. Ainsi, si les données de Willkomm et Lange (1861) et de Colmeiro (1889) correspondent à des localités vraiment spontanées, *N. poeticus* L. a avancé vers le nord et le nord-ouest, en finissant pour gagner les montagnes de la Catalogne (Monseny, Valle d'Arán, Monserrat, Gabá, Brugués pr. Bagá), de l'Aragon (Benasque et Castanesa), des Astouries, de la Vieille-Castille (Burgos) et de la Nouvelle-

Castille (Alcarria). Les descendants des plantes qui ont réussi à franchir les montagnes de la Catalogne et de l'Aragon vont faire l'escalade des Pyrénées, montagnes où ils persistent (v. Pugsley, 1915, 1937) à l'Haute-Garonne (Val de Lys pr. Luchon) et aux Pyrénées-Orientales (Mont Louis). Après la réussite de cette escalade, *N. poeticus* L. va peupler le midi de la France (Montpellier, Hyères) et remonter la valée du Rhône jusqu'au Dauphiné (Lautaret). Alors, il traverse les Alpes français et suisses (Savoie, Mont Cenis), pour gagner la Ligurie (Pise) et la région des lacs italiens et suisses (alentours de Lugano, Campedone pr. Pallanza). Après, il a avancé, d'un côté, à travers les montagnes de l'Autriche et de l'Hongrie jusqu'à la Transylvanie et, de l'autre, par l'Istrie, la Bosnie, la Serbie et le Monténégro pour arriver à la Grèce (Mont Pindus, Mont Oeta et Boecia).

À certains endroits de cette aire, *N. poeticus* L. a engendré de nouvelles formes (fig. 14):

1) Aux Pyrénées, il aurait donné naissance à la var. *majalis* (*N. majalis* Curtis), qui aurait ensuite avancé vers le nord et l'est, puisque, d'après Pugsley (1915, 1937), on connait à présent les localités suivantes: Val de Lys pr. Luchon, Haute-Garonne; Mont Louis, Pyrénées-Orientales; Montpellier; St. Baume pr. Hyères, Dept. du Var);

2) La var. *verbanensis* (*N. verbanensis* Roemer) aurait pris naissance au Dauphiné (Lautaret) et elle aurait avancé jusqu'à la région des lacs alpins (alentours de Lugano; Campedone pr. Pallanza; Mont Ceneri, Canton Ticino);

3) En Grèce, se serait différenciée la var. *hellenicus* (*N. hellenicus* Pugsley);

4) Le type de la ssp. *radiiflorus* (*N. radiiflorus* Salisb.) aurait probablement pris naissance en Suisse, en émigrant ensuite à travers la Serbie, la Bosnie et le Monténégro;

5) La var. *stellaris* de la ssp. *radiiflorus* (*N. stellaris* Haw.) aurait été engendrée dans les régions montagneuses de l'Autriche, après quoi elle aurait avancé vers l'est jusqu'à gagner la Transylvanie;

6) La var. *exertus* de la ssp. *radiiflorus* (*N. exertus* Pugsley) aurait fait son apparition en Suisse (Les Avants pr. Montreux).

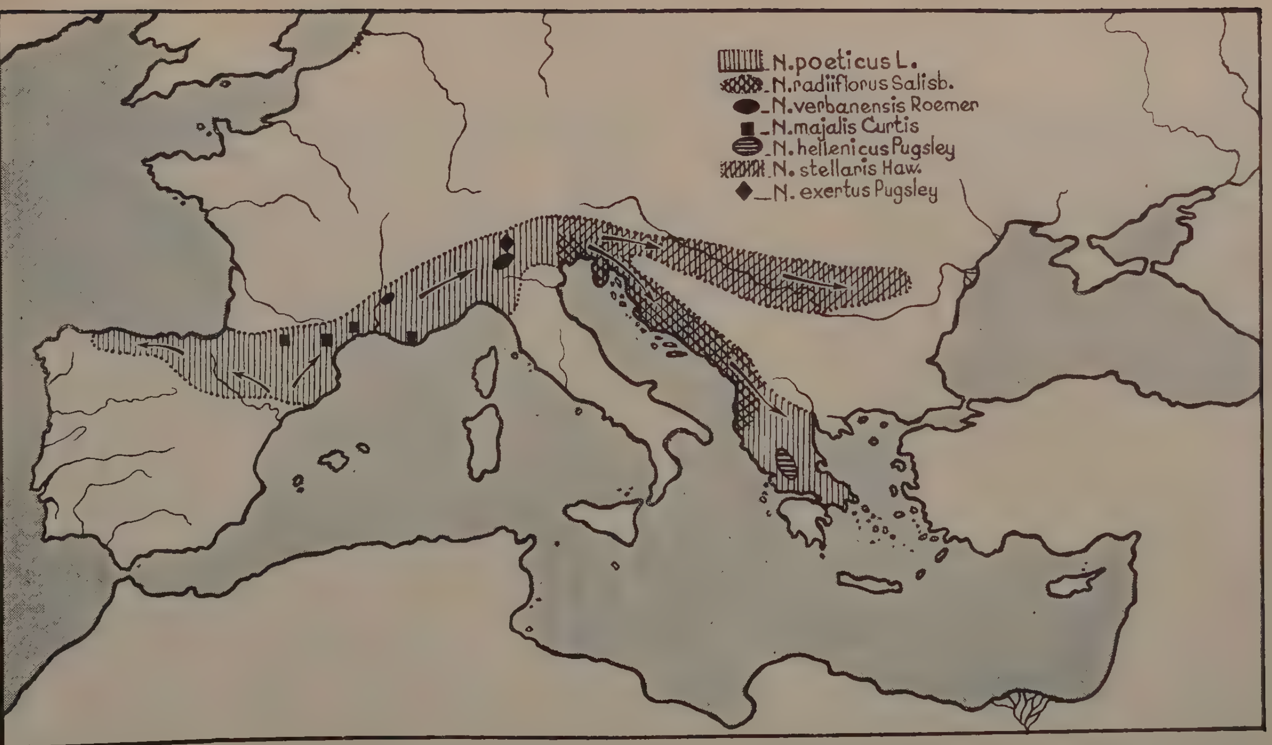


Fig. 14. — Aire géographique de *N. poeticus* L. La distribution de quelques variétés de cette espèce est aussi représentée. Les flèches indiquent les directions des migrations. En ce qui concerne les catégories taxonomiques considérées comme des espèces sur cette carte dans le but de rendre les noms plus courts, voir le texte et le chapitre « Classification du genre *Narcissus* L. ».

Probablement dans les cultures, *N. poeticus* L. a engendré des formes triploïdes (Nagao, 1929 ; Lemos-Pereira, 1940).

N. biflorus Curtis

N. biflorus Curtis possède 17 chromosomes somatiques et ce nombre, ainsi que la morphologie des chromosomes, montrent, assez nettement, que ce Narcisse a été issu de l'hybridation d'une forme de *N. Tazetta* L. à 2n = 20 et d'une autre de *N. poeticus* L. à 2n = 14, ce qui est d'accord avec l'opinion de Fiori et Paoletti (1896-1898), Stomps (1919), Nagao (1933), Bowles (1934), etc.

L'endroit de la naissance de cet hybride reste, cependant, douteux, par le fait que *N. biflorus* Curtis est une plante assez souvent cultivée, ce qui rend très difficile la distinction entre les localités vraiment spontanées et celles qui sont subspontanées. Colmeiro (1889) (1), Willkomm (1893) et Lázaro é Ibiza (1906) croient que cet hybride est spontané en Catalogne (Monserrat). Bowles (1934) dit qu'il semble que *N. biflorus* Curtis a existé à l'état spontané aux alentours de Montpellier, dans le midi de la France. Fiori et Paoletti (1896-1898), finalement, le considèrent spontané en Italie du Nord, Toscane, Rome et Calabre.

Étant donné que *N. Tazetta* et *N. poeticus* L. croissent ensemble à la Catalogne, ainsi qu'aux environs de Montpellier et dans le nord d'Italie, il est probable que *N. biflorus* Curtis ait pris naissance séparément dans chacune de ces régions. L'hybridation pourrait même avoir eu lieu entre des formes spontanées de *N. Tazetta* L. et des formes naturalisées de *N. poeticus* L., ou bien entre des formes naturalisées de ces deux espèces.

Stomps (1919) et Nagao (1933) rapportent l'existence de formes de *N. biflorus* Curtis à 2n = 24. Ces formes, comme nous l'avons suggéré (Fernandes, 1934), ont certainement été engendrées au moyen du croisement d'une forme tétraploïde (ou d'un gamète non-réduit) de *N. poeticus* L. avec un gamète haploïde d'une forme de *N. Tazetta* L. à 2n = 20. Ces formes ont probablement pris naissance dans les cultures.

---

(1) L'exemplaire du Portugal cité par Colmeiro (1889) existe à l'herbier de l'Institut Botanique de Coimbra, mais il s'agit sans aucun doute d'une plante cultivée ou tout au moins naturalisée. D'autre part, ou constate que *N. poeticus* L. n'existe pas au Portugal.

N. gracilis **Sabine**

Se basant sur les caractères de la morphologie externe et sur les données caryologiques, Lemos-Pereira (1940) a réussi à démontrer que cette espèce n'est qu'un hybride de *N. Jonquilla* L. et *N. poeticus* L.

Bowles (1934) constate que *N. gracilis* Sabine ne se trouve pas à l'état spontané, ce qui montre qu'il s'agit d'une forme obtenue en culture.

Section *Queltia* (Salisb.) Spreng.

Nous rassemblons dans cette section toutes les formes qui peuvent être réunies dans l'espèce collective nommée *N. incomparabilis* Miller. En ce qui concerne l'origine et la distribution de cette espèce, Bowles (1934) dit: «All forms of N. incomparabilis are undoubtedly hybrids between Ajax and poeticus and can be raised with ease in gardens. The form of this cross named N. Bernardii occurs in the Pyrenees where the two grow together, but only as scattered plants, and wherever colonies of one form only are found in Italy and France they are probably escapes from cultivation» (Bowles, *l. c.*, p. 92). Nos recherches caryologiques (v. Fernandes, 1934) s'accordent parfaitement avec ce point de vue.

Des formes à 2n=21 chromosomes (var. aurantius, Gloria Mundi et Sir Watkin) ont été obtenues dans les cultures. Par le fait que *N. incomparabilis* a été souvent hybridé avec ses parents, il est probable que ces formes aient été engendrées par suite de la conjugaison de gamètes non-réduits de l'hybride avec des gamètes haploïdes soit de *N. Pseudo-Narcissus* L., soit de *N. poeticus* L.

SOUS-GENRE *AJAX* SPACH

Au moyen de mutations de gènes et probablement aussi par suite d'altérations structurelles, l'espèce ancestrale aurait engendré une autre, qui a retenu quelques caractères de son ancêtre (tube du périgone obconique, étamines égales, unisériées et insérées vers la base du tube), en même temps qu'elle a acquis des feuilles plus larges, des fleurs solitaires plus

grandes et un peu plus odorantes et à couronne beaucoup développée, presque aussi longue que les divisions périgonales. Cette espèce serait *N. Pseudo-Narcissus* L.

Après sa différenciation, *N. Pseudo-Narcissus* L. aurait réussi à peupler la Sierra Nevada et la Sierra de Yunquera, régions d'où il aurait ensuite émigré vers le nord-ouest, le nord et le nord-est de la Péninsule Ibérique (fig. 15). En émigrant vers le nord-ouest, il aurait réussi à traverser l'Andalousie et le sud de l'Estrémadure espagnole, pour arriver au Portugal à Odemira, Serra d'Arrábida, Sintra et Mafra. Un peu plus au nord, il aurait traversé aussi l'Estrémadure espagnole (Sierra de Majareina), pour arriver aux montagnes du centre du Portugal (Serra da Estrela), d'où il serait probablement descendu le long de la vallée du Zêzere pour gagner Ferreira do Zêzere.

En émigrant vers le nord, il aurait réussi à peupler les montagnes de la région de Jaen (Macizo de Mágina, Le Pozo, Sierra de Cabrilla), la Nouvelle-Castille (Alcarria, Escorial et Sierra de Guadarrama) et la Vieille-Castille (Burgos, Palencia, Peguerinos, Reinosa, Bargas et Santander). De ce courant migratoire, deux autres s'auraient détachés: l'un aurait fait du chemin vers le nord-ouest en traversant les montagnes de Léon (Vierzo, Riaño, Sierra de Tabrugo, San Pedro de Montes), pour gagner le nord du Portugal (Trás-os-Montes, Douro Litoral et Minho), la Galice (Selva negra, Piedrafita, Sierra del Suido, Pontevedra, environs de Ferrol, La Coruña) et les Asturies (Oviedo, Puerto de Leitarriegos, etc.); et l'autre aurait avancé vers le nord et le nord-est, en peuplant les Provinces Basques (Izarra, environs de Cegama), la Navarre (Valle de Vertizarana, etc.), l'Aragon (Sierra de Acered, Sierra de Atea, Sierra de Guara, Moncayo, Boltaña, montagnes de Benasque et Castanesa, Tarazona, Bielsa, environs de Jaca, Pyrénées) et la Catalogne (Monseny, Valle de Arán, Monserrat, Berga, Comanegra pr. Monás, Puigsacau, alentours d'Olot) et en arrivant aux Pyrénées.

Cette chaîne de montagnes a été intensément peuplée, et, de là, *N. Pseudo-Narcissus* L. va se répandre à travers la France. En avançant vers le nord et le nord-est, il arrive jusqu'au Rhin, et, en avançant à travers le sud, il arrive aux Alpes, et, après avoir franchi cette autre chaîne de montagnes, il a gagné la Suisse et le nord d'Italie.



Fig. 15.—Carte montrant l'aire géographique de *N. Pseudo-Narcissus* L. *sensu amplo*. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

Par le fait qu'il s'agit de plantes croissant assez souvent aux sommets des montagnes, nous ne connaissons pas en détail la distribution géographique des taxons de *N. Pseudo-Narcissus* L. dans la Péninsule Ibérique. D'autre part, nous ne connaissons pas à présent la caryologie du groupe d'une façon satisfaisante et sa génétique est encore inconnue. Pour ces raisons, nous ne pourrons pas reconstituer en détail l'histoire évolutive du sous-genre. Nous nous bornerons donc à faire ici cette reconstitution d'une façon moins détaillée (v. figs. 16 et 17).

Étant donné que la ssp. *nevadensis* (*N. nevadensis* Pugsley) se trouve à la Sierra Nevada (fig. 16) et le fait qu'elle possède une petite taille, des feuilles vertes et des fleurs petites longuement pédonculées, il nous semble que cette sous-espèce doit correspondre à la forme la plus primitive du sous-genre *Ajax*. À partir de cette forme, la ssp. *longispathus* (*N. longispathus* Pugsley) aurait pris naissance (fig. 16) dans la province de Jaen (Sierra de Cabrilla), probablement par tétraploïdie, puisque les plantes de cette sous-espèce présentent une taille plus élevée, des feuilles vertes plus longues et plus larges et des spathes et pédoncules plus longs. La ssp. *nevadensis* aurait aussi engendré la ssp. *portensis* (*N. portensis* Pugsley) qui rappele son ancêtre par sa taille. Cette forme aurait avancé vers le nord jusqu'à la Sierra de Guadarrama et vers le nord-ouest presque jusqu'au littoral du Douro, du Minho et de la Galice (fig. 16), régions où elle aurait donné naissance, probablement par l'accumulation de mutations de gènes, à *N. cyclamineus* DC. qu'on trouve à présent aux alentours de Porto (rives des fleuves Ferreira et Avintes), à Pontevedra et à La Coruña (fig. 16). Cette forme s'éloigna de toutes les autres par des caractères assez marqués (fleurs petites à tube du périgone nul ou subnul et à des tépales réfléchies), et, par ce fait, elle doit être considérée comme une espèce distincte.

La ssp. *nevadensis* aurait aussi engendré la ssp. *confusus* (*N. confusus* Pugsley) qu'on trouve (fig. 16) à l'Andalousie espagnole (Sierra de Majareina), mais qui, d'après Pugsley (1933), doit être probablement le Narcisse prédominant dans l'Espagne centrale.

À son tour, la ssp. *confusus* aurait été la souche qui aurait donné naissance, d'une part, à la ssp. *major* (*N. hispanicus*

Gouan) et, d'autre, au type de *N. Pseudo-Narcissus* L. (ssp. *Pseudo-Narcissus*). La ssp. *major* aurait avancé vers le nord et



Fig. 16.— Carte montrant la répartition des taxons de *N. Pseudo-Narcissus* L. *sensu amplo* dans la Péninsule Ibérique et le sud-ouest de la France. En ce qui concerne la catégorie taxonomique des groupes mentionnés sur cette carte, voir le texte et le chapitre « Classification du genre *Narcissus* L.».

elle a réussi à peupler une partie du nord d'Espagne et du sud-ouest de la France. En Italie, vraisemblablement à partir de plantes introduites, la ssp. *pisanus* (*N. pisanus* Pugsley) aurait été engendrée. Par le fait qu'on trouve chez la ssp. *major* des formes diploïdes et triploïdes, il est probable que la poly-

ploïdie ait joué un rôle d'une certaine importance dans l'évolution de ce groupe de formes.

Comme Pugsley (1933) le remarque, la distribution de la ssp. *Pseudo-Narcissus* (*N. Pseudo-Narcissus* L. au sens de Pugsley) dans la Péninsule Ibérique est peu connue. Étant donné qu'il existe un spécimen récolté à La Granja qui Pugsley (1933) considère comme appartenant au type de l'espèce linnéenne, il est probable que l'aire géographique de la ssp. *Pseudo-Narcissus* s'étendra depuis la région centrale de la Péninsule Ibérique jusqu'à une limite orientale difficile d'établir (v. Pugsley, 1933). La ssp. *Pseudo-Narcissus* aurait engendré plusieurs taxons:

1) À un endroit de la Vieille-Castille, la ssp. *nobilis* (*N. nobilis* Schultes f.) aurait fait son apparition et, de là, elle aurait avancé vers l'ouest, le nord et le nord-est (fig. 16).

En 1948, nous avons trouvé à la Serra do Gerês (environs d'Albergaria) une forme qui, d'après leurs caractères, s'accordait parfaitement avec la description de Pugsley (1933) pour *N. nobilis* Schultes f. Après avoir indiqué les régions où cette forme a été ramassée (Vieille-Castille, Léon et Pyrénées-Centrales pr. Luchon), Pugsley (1933) dit qu'il est probable que l'aire de *N. nobilis* (fig. 16) soit plus étendue. La récolte de la plante dans les montagnes du nord du Portugal est donc d'accord avec la supposition de Pugsley (1933).

Nous avons constaté que les plantes étudiées étaient des tétraploïdes (Fernandes, non publié), ce qui nous amène à penser que la ssp. *nobilis* aurait été engendrée par tétraploïdie. D'accord avec ce point de vue se trouve le fait que la ssp. *nobilis* s'écarte de la ssp. *Pseudo-Narcissus* surtout par sa taille plus élevée et par les plus grandes dimensions de la fleur.

Au nord (fig. 16) de la province de Léon (Riaño), la ssp. *nobilis* aurait produit la ssp. *leonensis* (*N. leonensis* Pugsley), qui est une forme plus robuste et pourvue de fleurs encore plus grandes que celles de la ssp. *nobilis*;

2) La ssp. *macrolobus* [*N. macrolobus* (Jord.) Pugsley] aurait fait son apparition aux Pyrénées (fig. 16);

3) Par l'accumulation de mutations de gènes, parmi lesquelles on doit compter surtout celles qui ont produit des

fleurs d'un jaune-pâle à partir du jaune, la ssp. *pallidiflorus* (*N. pallidiflorus* Pugsley) aurait pris naissance dans la région de la frontière franco-espagnole.

Cette forme aurait à son tour engendré la ssp. *tortuosus* (*N. tortuosus* Haw.), à périgone d'un jaune soufre très pâle et à fleur pendante, et la ssp. *alpestris*, à fleur blanche et aussi penchée (fig. 16). Par le fait que la ssp. *tortuosus* possède 21 chromosomes, il est probable que la polyploïdie soit responsable pour la différenciation de cette forme;

4) Dans la région de la frontière franco-espagnole, la ssp. *abscissus* (*N. abscissus* Shultes f.) aurait pris naissance (fig. 16);

5) Dans les montagnes de la Nouvelle-Castille, la ssp. *Pseudo-Narcissus* aurait engendré une forme naine, qui serait *N. asturiensis* (Jord.) Pugsley. Après sa différenciation, cette nouvelle forme a gagné les montagnes de Léon, des Asturies, celles du centre (Serra da Estrela) et du nord du Portugal (Serra de Rebordãos et Serra do Gerês), ainsi que probablement celles de la Galice (fig. 16). Dans la Galice, sur les berges du Minho, aux environs de Lugo, *N. asturiensis* aurait à son tour engendré la var. *Lagoi* (par polyploïdie ?);

6) À la Serra do Gerês (?), à la Serra da Estrela (?), aux Pyrénées (?), une autre forme naine aurait été engendrée par l'accumulation de mutations de gènes, qui serait *N. minor* L. (1);

7) Dans la région de Gèdres (département des Hautes-Pyrénées) *N. parviflorus* (Jord) Pugsley (var. de *N. minor* L. ?) aurait été engendré.

---

(1) Il semble que les auteurs qui se sont occupés de l'étude de la flore de la Péninsule Ibérique (BROTERO, 1804; WILLKOMM et LANGE, 1861; HENRIQUES, 1887; COLMEIRO, 1889; LÁZARO É IBIZA, 1906; COUTINHO, 1913; SAMPAIO, 1947) ont appelé *N. minor* L. à ce qui correspond à *N. asturiensis* (Jord.) Pugsley. Cependant, PUGSLEY (1933) a montré que le spécimen de *N. minor* L. existant à l'herbier de LINNÉ et qui doit être considéré comme le type de l' espèce ne correspond pas à *N. asturiensis*. De cette façon, on ne connait pas à présent des localités où *N. minor* L. se trouve à l'état spontané. D'après PUGSLEY (1933), il est probable qu'il se trouvera au Portugal, à la Serra da Estrela et à la Serra do Gerês, régions où *N. asturiensis* est fréquent. De nouvelles herborisations s'imposent dans le but d'essayer de résoudre ce problème.

Les relations phylogénétiques des membres du sous-genre *Ajax* Spach ici suggérées sont représentées sur la fig. 17.

En confrontant ce qui arrive chez le sous-genre *Ajax* et la section *Ganymedes*, on peut remarquer un certain parallélisme dans l'évolution des deux groupes, puisqu'on constate, en allant du sud vers le nord de la Péninsule Ibérique, une évolution des formes à fleurs jaunes petites, vers des formes à

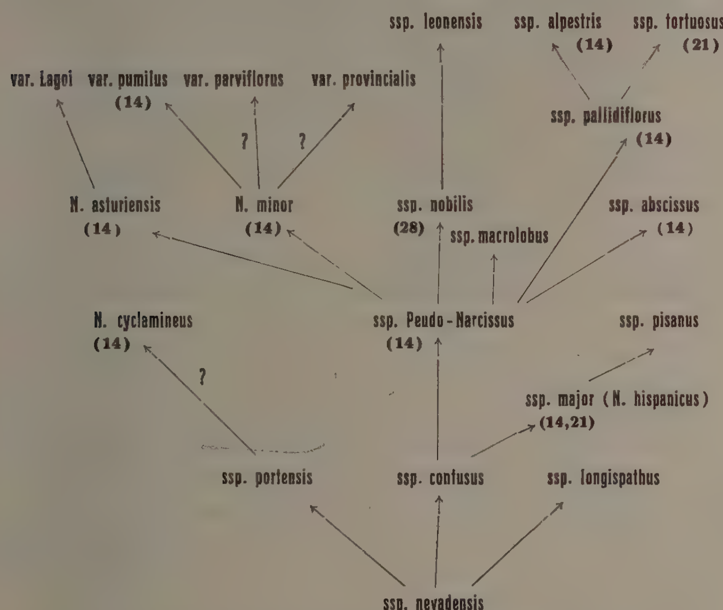


Fig. 17. — Schéma montrant les relations phylogénétiques des membres du sous-genre *Ajax* Spach. Les nombres chromosomiques connus sont donnés entre parenthèses. En ce qui concerne la synonimie, voir le texte et le chapitre « Classification du genre *Narcissus* L. ». Confronter avec la fig. 16 et avec le schéma de la Pl. I. Par le fait que beaucoup de données concernant la caryologie, la génétique et la répartition géographique manquent encore, cet arrangement doit être considéré comme provisoire.

fleurs plus grandes, vers des formes à fleurs d'un jaune soufre, vers des formes à fleurs d'un jaune très pâle, vers, finalement, des formes à fleurs blanches.

Malheureusement, quelques-uns des taxons reconnus par

Pugsley (1933, 1939) comme des espèces distinctes, *N. Lagoi* Merino, *N. parviflorus* (Jord.) Pugsley, *N. provincialis* Pugsley, *N. longispathus* Pugsley, *N. pisanus* Pugsley, *N. confusus* Pugsley, *N. portensis* Pugsley, *N. nevadensis* Pugsley, *N. macrolobus* (Jord.) Pugsley, *N. leonensis* Pugsley et *N. bicolor* L., n'ont pas encore été étudiés du point de vue caryologique, par le fait qu'il est assez difficile d'obtenir du matériel. Nous croyons que l'étude de ces plantes révélera que, dans la différenciation des taxons du sous-genre *Ajax*, la polyploïdie a joué un rôle plus important que celui qu'on peut lui attribuer à présent. Ce point de vue est d'accord avec le fait que des plantes croissant à la Serra da Estrela — forme *bicolor* d'après Coutinho (1939) et var. *bicolor* d'après Sampaio (1947) — possèdent 28 chromosomes. Le fait que quelques formes horticoles sont des polyploïdes parle aussi dans le même sens.

En ce qui concerne l'origine des formes horticoles, nous croyons que les diploïdes ont engendré, soit par la conjugaison de gamètes non-réduits, soit par mutation de bourgeons, des tétraploïdes (King Alfred, Van Waveren's Giant, Olympia, etc.), et que ceux-ci ont donné naissance à des hexaploïdes (2n = 42) au moyen de la conjugaison de gamètes non-réduits (tétraploïdes) avec des gamètes diploïdes (2n = 14). Le croisement entre des tétraploïdes et des hexaploïdes aurait engendré des pentaploïdes (2n = 35), qui, croisés à leur tour avec des tétraploïdes, auraient engendré des formes déséquilibrées à 31 (N. trompette M.me de Graff) et à 30 (des formes de Golden Spur) chromosomes.

Les triploïdes (des formes de Golden Spur, N. trompette Emperor, etc.) pourraient avoir été engendrés soit à partir de diploïdes par fusion de gamètes non-réduits avec des gamètes haploïdes, soit par le croisement de tétraploïdes avec des diploïdes.

Les données caryologiques montrent, comme nous l'avons déjà remarqué ci-dessus, que *N. Johnstonii* Pugsley n'est qu'un hybride d'une forme tétraploïde d'un *Ajax* et d'une forme diploïde de *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker = *N. reflexus* Brot. (v. Fernandes et Fernandes, 1946; Fernandes, 1949 *b*).

N. Johnstonii Pugsley a été trouvé (fig. 16) au Portugal (alentours de Porto) et en Galice (alentours d'Orense). Par le

fait que des formes tétraploïdes de *N. Pseudo-Narcissus* L. existent ou ont existé dans ces deux localités et que des formes diploïdes de *N. triandrus* L. var. *cernuus* y croissent aussi, il est probable que l'hybride ait pris naissance indépendamment à ces deux endroits.

Bien que nous n'ayons pas encore étudié *N. Taitii* Henriq. du point de vue caryologique, nous avons suggéré (Fernandes et Fernandes, 1946; Fernandes, 1949 *b*) que cette forme pourrait être un hybride dont les parents seraient des formes diploïdes de *N. Pseudo-Narcissus* L. et *N. triandrus* L. var. *cernuus.* Cet hybride aurait été engendré aussi aux environs de Porto, où des formes diploïdes de *N. Pseudo-Narcissus* L. doivent également exister.

***N. odorus* L.**

Les données caryologiques montrent que *N. odorus* L. n'est qu'un hybride de *N. Pseudo-Narcissus* L. et *N. Jonquilla* L. (v. Fernandes, 1934; Lemos-Pereira, 1940).

Étant donné qu'aucune localité vraiment spontanée peut être attribuée à cette espèce (v. Bowles, 1934), il est probable que *N. odorus* L. ait été engendré en culture. Cependant, il s'est naturalisé dans beaucoup de contrées (Portugal, Espagne, France, Italie et Dalmatie), par le fait qu'il s'échappe facilement des jardins par suite du fait de posséder la capacité de se multiplier végétativement.

SOUS-GENRE *CORBULARIA* (SALISB.) PAX

Avant l'ouverture du détroit de Gibraltar, l'espèce ancestrale, par l'accumulation de mutations de gènes et probablement par suite aussi d'altérations structurelles, a donné naissance à *N. Bulbocodium* L., espèce qui, par suite de sa fréquence et de la diversité des *habitats* où elle peut pousser, on peut considérer la plus réussite du genre. Cette espèce a retenu certains caractères de son ancêtre (feuilles étroites, tube du périgone large et étamines à filets presque libres), en même temps qu'elle a acquis des caractères nouveaux (fleurs solitaires, filets courbes déjétés d'un côté et couronne très développée).

L'ouverture du détroit de Gibraltar a partagé l'aire de

l'espèce récemment différenciée en deux régions, sud d'Espagne et nord du Maroc, régions d'où elle va s'épanouir pour occuper de nouvelles contrées.

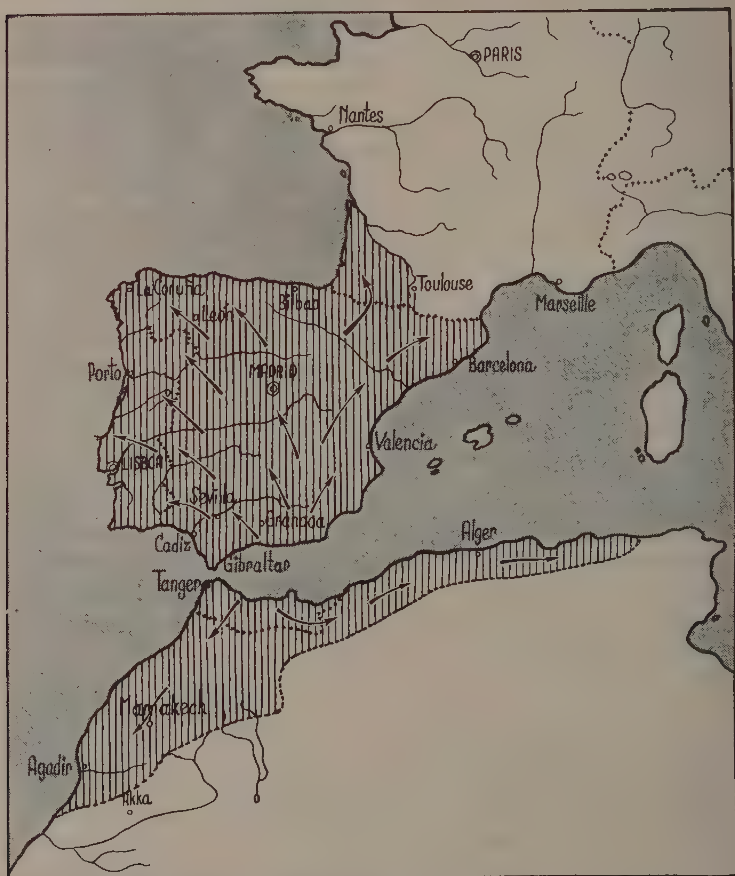


Fig. 18. — Aire géographique de *N. Bulbocodium* L. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

Du sud d'Espagne, elle a avancé vers l'ouest, le nord-ouest, le nord et le nord-est, en occupant toute la Péninsule Ibérique et en arrivant aux Pyrénées, comme la fig. 18 le montre. Ensuite, elle a réussi à franchir les Basses-Pyrénées et

les Hautes-Pyrénées, en terminant par occuper les départements français de Gers, Landes et Lot-et-Garonne.

Du nord du Maroc, elle a avancé vers le sud d'une part et vers l'est de l'autre, comme la fig. 18 le montre.

Des études caryologiques n'ont été poursuivies d'une façon systématique que chez les populations spontanées du Portugal, pays où jusqu'à présent nous avons trouvé des populations diploïdes (Serra do Gerês, Valongo, alentours de Bragança, Izeda, Covas do Douro pr. Pinhão, Serra da Estrela, Lamego, environs de Coimbra, Vimeiro pr. Alcobaça, Ponte de Ferro et Monte da Marconi aux alentours de Vendas Novas, Ermidas, Vila Viçosa, etc.), triploïdes (S. João do Monte, Leça do Bailio, etc.), tétraploïdes (Paúl de Ançã, entre Redinha et Pombal, Ponte dos Viadores pr. Mealhada, Estarreja, Madalena pr. Gaia, etc.), hipotétraploïdes à 26 chromosomes (Mira d'Aire, Chiqueda pr. Alcobaça, Pinhal do Valado, S. Martinho do Porto, Foz do Arelho, Tapada da Ajuda, Parede pr. Lisboa, Raposeira, Pontal pr. Faro, etc.), pentaploïdes (Pinhal de Leiria) et hexaploïdes (Póvoa de Lanhoso, Miranda do Corvo, alentours de Vendas Novas, etc.) (1).

Ce fait montre donc que *N. Bulbocodium* L. a engendré au Portugal des formes polyploïdes à maintes reprises et à beaucoup d'endroits. Les formes triploïdes ont été certainement issues de la conjugaison de gamètes non-réduits avec des gamètes haploïdes, tandis que les formes tétraploïdes ont été engendrées par la fusion de gamètes non-réduits. Les formes hexaploïdes pourraient avoir été issues du croisement de gamètes non-réduits produits par les formes tétraploïdes avec des gamètes diploïdes de ces mêmes formes. Par suite du croisement des formes hexaploïdes avec des tétraploïdes, des formes pentaploïdes auraient été engendrées.

Les formes hipotétraploïdes à $2n = 26$ ont pris naissance à partir de tétraploïdes, par suite de l'apparition, dans certaines formes, de deux inversions, localisées, respectivement, sur un chromosome du type lm et sur un autre du type Lp_1 (v. FERNANDES et NEVES, 1941).

---

(1) Un étude détaillée de la répartition des formes polyploïdes au Portugal est en préparation et elle sera publiée prochainement.

Quelquefois, on trouve des populations mixtes, constituées par des diploïdes et par des polyploïdes (FERNANDES, GARCIA et FERNANDES, 1948). D'autres fois, on trouve des diploïdes et des polyploïdes dans des localités voisines, mais croissant sur des milieux différents (FERNANDES, GARCIA et FERNANDES, *l. c.*). D'autres fois, on constate encore que des aires plus ou moins vastes sont occupées exclusivement par des populations polyploïdes. En ce qui concerne la répartition de ces races caryologiques au Portugal, on constate que, d'une façon générale, les diploïdes croissent surtout dans les hautes et les basses montagnes, en règle éloignées du littoral, tandis que les populations polyploïdes sont plus fréquentes dans les régions basses s'avoisinant du littoral et constituant le bord de l'aire de l'espèce. Nous croyons que ce qui arrive au Portugal arrive aussi en Espagne, en France et au Maroc et que, par conséquent, nous pourrons dire que la polyploïdie a joué un rôle assez important dans la vie de *N. Bulbocodium* L., puisqu'elle lui a permi d'occuper les régions voisines du littoral et les sols calcaires (v. FERNANDES et NEVES, 1941). Bien que possédant des aptitudes écologiques différentes, les formes polyploïdes ne se distinguent des diploïdes que difficilement au point de vue de la morphologie externe. Cependant, nous croyons que, particulièrement les formes tétraploïdes, les hipotétraploïdes à $2n = 26$ et les hexaploïdes, représentent de nouvelles espèces de l'avenir, puisque beaucoup de ces formes ont déjà acquis une méiose régulière avec la formation exclusive de bivalents, elles sont déjà presque isolées géographiquement et chez elles des procesus évolutifs, tels que les mutations de gènes et les altérations structurelles, continuent à jouer leur action différenciatrice.

Particulièrement remarquables à ce point de vue sont les formes hipotétraploïdes à $2n = 26$, car elles présentent déjà des caractères morphologiques qui permettent les séparer comme une sous-espèce distincte, ssp. *obesus* (Salisb.) Maire, et elles occupent une aire relativement étendue dans la région côtière du Portugal (v. FERNANDES et NEVES, 1941, p. 101). On constate aussi que quelques formes tétraploïdes peuvent se rattacher à la variété *conspicuus* (Haw.) et que tout au moins la variété *foliosus* Maire de la sous-espèce *monophyllus* (Dur.) Maire est aussi tétraploïde (FERNANDES, non publié).

Au Portugal, aux alentours de Porto, *N. Bulbocodium* L. a trouvé sur sa route *N. Pseudo-Narcissus* L. avec lequel il s'est croisé, en engendrant l'hybride *N. Bulbocodium* × *Pseudo-Narcissus* Baker. À la Serra do Gerês (FERNANDES, 1933, 1934) et à d'autres endroits du nord du Portugal (ROZEIRA, communication verbale), l'hybride *N. Bulbocodium* × *triandrus* var. *cernuus* Fernandes a été aussi engendré.

LES PROCESSUS ÉVOLUTIFS CHEZ LE GENRE *NARCISSUS* L.

D'après l'exposé qui vient d'être fait, on constate que, dans plusieurs cas, nous avons réussi à reconstituer les procédés les plus probables au moyen desquels certaines formes ont été engendrées chez le genre *Narcissus* L. Ces procédés peuvent être résumés de la façon suivante (1) :

a) *Mutations de gènes (à eux seules ou associées à des réarrangements chromosomiques qui ne peuvent pas être mis cytologiquement en évidence).*
   1. Différenciation de *N. rupicola* Duf. à partir de l'espèce ancestrale et origine de *N. rupicola* Duf. var. *Marvieri* Jah. et Maire, *N. scaberulus* Henriq. et *N. calcicola* Mendonça à partir de *N. rupicola* Duf.
   2. Différenciation de *N. Watieri* Maire à partir de *N. rupicola* Duf. var. *Marvieri* Jah. et Maire.
   3. Origine de *N. triandrus* L. var. *cernuus* et *N. triandrus* L. var. *pulchellus* à partir de *N. triandrus* L. var. *concolor*, ainsi que différenciation de *N. triandrus* L. var. *Loiseleurii* et *N. triandrus* L. var. *albus* à partir de *N. triandrus* L. var. *cernuus*.
   4. Différenciation de *N. cyclamineus* DC., *N. asturiensis* (Jord.) Pugsley, *N. minor* L., *N. pumilus* Salisb., *N. nanus* Spach, *N. obvallaris* Salisb., *N. pallidiflorus* Pugsley, *N. Gayi* (Hénon) Pugsley, *N. moschatus* L., *N. alpestris* Pugsley, *N. albescens* Pugsley, *N. abscissus* Schultes f. et de plusieurs autres taxons, appartenant

---

(1) Il est à remarquer que nous supposons que des mutations de gènes doivent avoir accompagné tous les autres procédés où elles ne sont pas signalées.

à d'autres espèces, qui possèdent des idiogrammes semblables à ceux des types spécifiques.

b) *Polysomie.*
Origine des formes de *N. Bulbocodium* L., *N. juncifolius* Lag., *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker et *N. asturiensis* (Jord.) Pugsley à hétérochromatinosomes surnuméraires.

c) *Polyploïdie.*
Origine de *N. viridiflorus* Schousb. ($4x$), ainsi que de plusieurs formes de *N. Tazetta* L. ($3x$), *N. poeticus* L. ($3x$), *N. incomparabilis* Miller ($3x$), *N. Pseudo-Narcissus* L. ($3x$, $4x$) et *N. Bulbocodium* L. ($3x$, $4x$, $5x$, $6x$).

d) *Hybridation d'espèces* (1).
1. *N. intermedius* Lois. = *N. Jonquilla* L. × *N. Tazetta* L.
2. *N. gracilis* Sabine = *N. Jonquilla* L. × *N. poeticus* L.
3. *N. biflorus* Curt. = *N. poeticus* L. × *N. Tazetta* L.
4. *N. incomparabilis* Mill. = *N. poeticus* × *N. Pseudo-Narcissus* L.
5. *N. odorus* L. = *N. Jonquilla* L. × *N. Pseudo-Narcissus* L.
6. *N. Taitii* Henriq. = *N. Pseudo-Narcissus* L. × *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker.
7. *N. Pujolii* Font-Quer = *N. dubius* Gouan × *N. juncifolius* Lag.

e) *Polyploïdie + hybridation d'espèces.*
1. *N. jonquilloides* Willk. ($2n = 21$) = *N. Jonquilla* L. ($4x$) × *N. gaditanus* Boiss. et Reut. ($2x$).
2. *N. Johnstonii* Pugsley ($2n = 21$) = *N. Pseudo-Narcissus* L. ($4x$) × *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker ($2x$).

f) *Polyploïdie + hybridation d'espèces + duplication chromosomique.*
Naissance de *N. dubius* Gouan ($2n = 50$), par suite de l'hybridation d'une forme tétraploïde de *N. juncifolius* Lag. ($n = 14$) et d'une forme diploïde de *N. Tazetta* ($n = 11$), suivie de duplication chromosomique.

g) *Inactivation de gènes par suite d'hétérochromatinisation.*
Origine de *N. Fernandesii* Pedro à partir de *N. Jonquilla* L.

---

(1) Voir aussi le chapitre « Classification du genre *Narcissus* L.».

h) *Réarrangements chromosomiques.*
  1. Différenciation de *N. Bulbocodium* L., *N. triandrus* L., *N. juncifolius* Lag., *N. Jonquilla* L., *N. poeticus* L. et *N. Pseudo-Narcissus* L. à partir de l'espèce ancestrale.
  2. Origine de plusieurs races caryologiques de *N. Bulbocodium* L., *N. triandrus* L. et *N. Tazetta* L., distinctes du point de vue du nombre, position et taille des satellites.
  3. Différenciation de quelques races de *N. Bulbocodium* L., *N. Tazetta* L., etc., pourvues d'inversions révélées par l'apparition de ponts méiotiques.

i) *Délétions compensées probablement par l'existence de duplications.*
Origine de *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et de *N. minutiflorus* Willk. à partir de *N. juncifolius* Lag.

j) *Polyploïdie + réarrangements chromosomiques.*
Naissance des formes de *N. Tazetta* L. à 20 chromosomes somatiques.

k) *Polyploïdie + réarrangements chromosomiques + élimination de chromosomes.*
Différenciation de *N. Bulbocodium* L. ssp. *obesus* (Salisb.) Maire.

l) *Polyploïdie + polysomie.*
Naissance des formes horticoles Victoria (2n=22), Golden Spur (2n=30), Bicolor Victoria (2n=22), Buttonhole (2n=22), Empress (2n=22), Grandee (2n=22), *N. bicolor* Horsfieldii (2n=22), N. trompette Impératrice (2n=22) et N. trompette M.[me] de Graff (2n=31) de *N. Pseudo-Narcissus* L.

m) *PloypLoïdie secondaire + réarrangements chromosomiques.*
  1. Différenciation des formes de *N. Tazetta* L. à 22 chromosomes somatiques.
  2. Origine de *N. Broussonetii* Lag.
  3. Naissance de *N. serotinus* L.

Cet aperçu montre que dans l'évolution du genre *Narcissus* L. ont agi et agissent encore les procédés qu'on trouve en général chez les végétaux, c'est-à-dire:

  a) Mutations de gènes
  b) Hybridation
  c) Polysomie

d) Polyploïdie

e) Perte de chromosomes chez des plantes à constitution polyploïde

f) Inactivation génique par suite d'hétérochromatinisation

g) Réarrangements chromosomiques.

Il est à remarquer que ces procédés n'agissent pas en général séparément, mais qu'ils peuvent se combiner de toutes les façons possibles, en rendant le processus evolutif extrêmement complexe. Par suite de cette combinaison et du fait que des mutations de gènes doivent avoir accompagné tous les autres procédés, il est très difficile d'établir l'importance relative du rôle joué par chacun de ces procédés.

D'après ce qu'on connait au sujet d'autres êtres vivants où des recherches approfondies ont été menées à bout (*Drosophila melanogaster, Zea Mays*, etc.), il est probable que, dans la différenciation des Narcisses, le rôle le plus important ait été joué par les mutations de gènes (mutations factorielles). D'accord avec ce point de vue, se trouve le fait que beaucoup de formes à idiogramme identique sont distinctes du point de vue morphologique.

Les réarrangements chromosomiques, accompagnés sans doute de mutations de gènes, ont joué aussi un rôle important, puisqu'on devra attribuer à ce processus la différenciation de *N. triandrus* L., *N. juncifolius* Lag., *N. Jonquilla* L., *N. poeticus* L., *N. Pseudo-Narcissus* L. et *N. Bulbocodium* L., taxons qui ont été les souches de la plupart des sections du genre.

Un autre facteur d'importance dans l'évolution du genre a été l'hybridation, car on compte plusieurs taxons considérés par les taxonomistes comme des espèces distinctes qui ont eu une telle origine.

À la polyploïdie seule, ou à la polyploïdie associée à d'autres processus, doit être attribuée l'origine de *N. viridiflorus* Schousb., *N. serotinus* L., *N. elegans* Spach, *N. Tazetta* L. et *N. Broussonetii* Lag., espèces qui, d'après les données de la répartition géographique, doivent être considérées comme anciennes. Il est à remarquer que la polyploïdie est assez fréquente chez le genre et que des formes polyploïdes à plusieurs degrés ont été trouvées chez *N. Tazetta* L., *N. poeticus* L., *N. Pseudo-Narcis-*

sus L. et *N. Bulbocodium* L. Ces formes polyploïdes sont pour la plupart assez récentes et à présent elles ne se séparent que difficilement de leurs ancêtres diploïdes. Cependant, nous croyons que, particulièrement les formes équilibrées, seront de nouvelles espèces de l'avenir, puisqu'elles se différencieront, comme il est arrivé aux espèces polyploïdes anciennes ci-dessus mentionnées. À notre avis, la polyploïdie, soit primaire soit secondaire, devra donc jouer un rôle assez important dans l'avenir du genre.

L'inactivation génique par suite d'hétérochromatinisation a été seulement suggérée en ce qui concerne l'origine de *N. Fernandesii* Pedro. Il semble donc que ce processus n'a pas joué chez les Narcisses un rôle d'importance.

Le rôle de la polysomie reste encore à être établi. À présent, nous ne lui pourrons attribuer que l'origine de quelques formes horticoles et de quelques races pourvues d'hétérochromatinosomes surnuméraires, et nous ne savons pas encore si ces chromosomes pourront ou non jouer quelque rôle dans la différenciation de nouvelles espèces.

En ce qui concerne les facteurs du milieu auxquels doivent être imputées les altérations génotypiques responsables pour la différenciation de taxons nouveaux à l'état spontané, nous croyons que le rôle le plus important a été joué par l'action de la température et des radiations ultra-violettes.

En effet, chez les espèces à floraison vernale et printanière, les plantes se trouvent en activité pendant les mois les plus froids de l'année (novembre et décembre), et, par ce fait, les divisions préméiotiques et méiotiques pourront être influencées par les basses températures. Ces températures peuvent engendrer beaucoup d'anomalies dans ces divisions, parmi lesquelles on doit compter la fréquente formation de gamètes non-réduits, à la conjugaison desquels doit être attribuée la naissance des formes polyploïdes, soit autopolyploïdes, soit allopolyploïdes, qu'on trouve fréquemment chez les Narcisses.

Les chocs thermiques pourront aussi engendrer des mutations factorielles, ainsi que des ruptures des chromonemata. Ces ruptures peuvent être la source de réarrangements chromosomiques divers, dont quelques-uns pourront s'établir avec toutes leurs correspondantes altérations.

Quant aux espèces à floraison automnale, on constate que ces plantes se trouvent en activité pendant les mois les plus chauds de l'année. De cette façon, les températures élevées peuvent agir aussi sur les divisions préméiotiques et méiotiques, en engendrant des altérations comparables à celles produites par les basses températures.

Beaucoup d'espèces de Narcisses croissent sur les hautes montagnes où l'intensité des radiations ultra-violettes est parfois considérable au moment que les plantes sont fleuries. Comme on le sait, le pollen de ces plantes ne se détache pas, mais il demeure exposé à la surface des anthères après leur ouverture. Pendant cette période, ainsi que pendant le temps où il demeure déposé sur le stigmate, le pollen subit l'action des rayons ultra-violets et nous croyons que ces radiations, agissant sur ces cellules exposées, peuvent engendrer particulièrement des mutations de gènes. Par le fait que beaucoup d'espèces possèdent des idiogrammes semblables (v. Pl. II), ce qui montre que des mutations de gènes ont été à la base de leur différenciation, nous croyons que les radiations ultra-violettes ont joué un rôle assez important dans l'évolution du genre.

En ce qui concerne les radiations cosmiques, la radio-activité naturelle, ainsi que l'action des substances chimiques absorbées ou élaborées par ces plantes dans les conditions naturelles, rien n'est connu à présent, bien que nous pourrons soupçonner que ces agents, particulièrement le dernier, pourront avoir aussi joué leur rôle.

Les études caryologiques menées à bout sur le genre *Narcissus* nous donnent quelques indications au sujet des moyens qu'on doit employer dans le but d'obtenir de nouvelles formes horticoles. Tout d'abord on constate que beaucoup d'espèces, particulièrement *N. Jonquilla* L., *N. serotinus* L., *N. elegans* Spach, *N. Tazetta* L., *N. poeticus* L., *N. Pseudo-Narcissus* L., *N. Bulbocodium* L. et *N. triandrus* L., sont polymorphes, puisque chez elles on peut distinguer de nombreuses catégories taxonomiques correspondant soit à des sous-espèces, soit à des variétés, soit à des formes. Les croisements intraspécifiques, par le fait qu'ils sont fertiles, pourront donc nous aider à obtenir de nouvelles formes et ce moyen a été souvent utilisé par les horticulteurs. D'autre part, on constate que les croisements

interspécifiques réussissent le plus souvent, même entre des espèces éloignées du point de vue systématique. De cette façon, l'hybridation interspécifique peut jouer un rôle fondamental dans l'obtention de formes nouvelles. Les hybrides sont en général stériles, mais, par le fait qu'ils peuvent se multiplier végétativement, ils peuvent être maintenus dans les cultures. Cette voie a été intensément explorée par les horticulteurs depuis longtemps et à présent on connait beaucoup de formes obtenues par ce procédé (voir particulièrement Burbidge, 1875; Baker, 1888; Calvert, 1929; Bowles, 1934; et la collection de la publication « The Daffodil and Tulip Year Book »). Ce processus a aussi bien réussi que quelques-uns de ces hybrides se sont naturalisés à certains endroits et ils ont été considérés comme des espèces distinctes avant que leur origine ait été démontrée.

Par suite du manque d'homologie entre les garnitures réunies, les divisions réductrices sont en général irrégulières chez les hybrides, et les grains de pollen, ainsi que les sacs embryonnaires, avortent le plus souvent. Cependant, il arrive que, quelquefois, des grains de pollen et des sacs embryonnaires non-réduits, c'est-à-dire possédant tous les chromosomes de l'hybride, sont engendrés. La conjugaison de gamètes de ce type donnera naissance à des amphidiploïdes qui pourront être stables et fertiles. On pourra donc obtenir de nouvelles formes en praticant la fécondation chez ces hybrides. Étant donné que les Narcisses manifestent assez souvent des phénomènes d'incompatibilité, il est préférable de faire des pollinisations croisées, c'est-à-dire des pollinisations entre des plantes issues de croisements différents. D'autre part, par le fait que les gamètes non-réduits sont produits en petite quantité, il faut faire beaucoup de fécondations dans le but de réussir à obtenir des graines correspondant à des amphidiploïdes.

Cette méthode d'obtention d'amphidiploïdes demande beaucoup d'efforts. On pourra peut-être surmonter cette difficulté par l'emploi de la colchicine ou d'autres substances polyploïdisantes, puisque, en soumettant les bulbes à l'action de ces agents, il y a beaucoup de probabilités que des caïeux à constitution amphidiploïde soient engendrés. La fréquente formation de caïeux chez les hybrides laisse entrevoir que ce procédé

pourra avoir du succès. Le fait que l'apparition de tétraploïdes par « mutation de bourgeons » a été quelquefois rapportée chez quelques plantes qui n'ont été soumises à aucun traitement spécial parle aussi dans le même sens. Les amphidiploïdes, combinant les caractères des deux espèces réunies par l'hybridation, pourront avoir une grande importance horticole et ils pourront, à leur tour, être employés pour produire de nouveaux hybrides.

La production de formes autopolyploïdes aura aussi une grande importance pour l'horticulture et cette importance résulte surtout des faits suivants: 1) ces plantes, particulièrement celles comprises entre les degrés de polyploïdie $3x$ et $6x$, sont en règle plus vigoureuses que les diploïdes et possèdent en général des fleurs plus larges et plus belles; 2) étant donné que le développement des polyploïdes est plus lent que celui des diploïdes, les polyploïdes seront plus tardifs en ce qui concerne la floraison, ce qui amène à l'existence de fleurs pendant une période plus longue; 3) les polyploïdes sont plus plastiques que les diploïdes en ce qui concerne les conditions du milieu, ce qui rend peut-être leur culture plus facile.

La production d'autopolyploïdes a lieu assez souvent à l'état spontané et leur création artificielle n'offre de difficulté. Tout d'abord, ils peuvent être engendrés au moyen de chocs thermiques, puisque ceux-ci pourront provoquer la formation de gamètes non-réduits. Au moyen du croisement de ces gamètes avec des gamètes haploïdes, des formes triploïdes seront engendrées, tandis que les tétraploïdes prendront naissance par la fusion de gamètes diploïdes. En soumettant aussi les triploïdes et les tétraploïdes à l'action de chocs thermiques, des pentaploïdes, hexaploïdes, etc. pourront être produits après les fécondations. Le même résultat pourra probablement être obtenu en soumettant les plantes à l'action de la colchicine ou à celle d'autres agents polyploïdisants, puisque, au moyen de cette technique, des plantes à degré paire de polyploïdie peuvent être engendrées à partir des diploïdes. Ensuite, des périssoploïdes pourront être obtenus au moyen du croisement des formes artioploïdes.

Une autre méthode d'obtention de formes horticoles pourra être trouvée dans le croisement d'autotétraploïdes

appartenant à des espèces différentes, puisque, par l'application de ce procédé, des amphidiploïdes stables et fertiles pourront être engendrés. Le croisement d'hexaploïdes appartenant à des espèces différentes pourra probablement avoir aussi d'importance.

L'étude caryologique des formes horticoles a montré que, le plus souvent, ces formes sont des diploïdes ou des polyploïdes équilibrés (3*x*, 4*x*, 5*x* et 6*x*). Cependant, on trouve quelquefois des formes déséquilibrées, particulièrement des triploïdes et des tétraploïdes à chromosomes surnuméraires euchromatiques (v. FERNANDES et FERNANDES, 1946). Ce fait montre que la polyploïdie combinée avec la polysomie peut aussi jouer son rôle dans la création de nouvelles formes horticoles. Ces formes résultent certainement le plus souvent du croisement d'artioploïdes avec des périssoploïdes et elles pourront être maintenues au moyen de la multiplication végétative.

Dans un travail antérieur (FERNANDES, 1949 *a*), nous avons démontré l'existence chez quelques plantes de *N. Bulbocodium* L. d'un gène, H, dominant, qui contrôle la quantité de chromatine active. Chez ces plantes, les euchromatinosomes surnuméraires sont convertis en des hétérochromatinosomes, en même temps que leurs gènes sont rendus plus ou moins inactifs. De cette façon, les plantes pourvues de ce gène sont défendues des déséquilibres géniques apportés par la polysomie.

Par le fait que les hétérochromatinosomes surnuméraires ont été trouvés chez d'autres espèces, particulièrement *N. juncifolius* Lag. (FERNANDES, 1939 *c*), *N. asturiensis* (Jord.) Pugsley (FERNANDES et FERNANDES, 1946) et *N. triandrus* L. var. *cernuus* (Salisb.) Baker (FERNANDES, 1949 *b*), il est probable que ce gène existe aussi chez d'autres espèces du genre.

En étudiant une population de *N. Bulbocodium* L. de la Serra do Gerês, nous avons constaté que presque toutes les plantes qui étaient fleuries au commencement du printemps étaient des diploïdes normaux. Par contre, parmi les plantes récoltées plus tard vers la fin du mois juin, nous avons constaté l'apparition d'un pourcentage assez élevé d'individus pourvus d'hétérochromatinosomes surnuméraires. Ce fait montre que les plantes pourvues d'hétérochromatinosomes surnuméraires se développent plus lentement que les plantes normales,

probablement par le fait que les hétérochromatinosomes ne sont pas complètement inactivés et ils sont encore les responsables d'un certain déséquilibre. Cette particularité du développement plus lent pourra être d'utilité par les horticulteurs, puisqu'on pourra rendre plus longue la période de floraison d'une certaine espèce au moyen de la culture de plantes normales et de plantes à hétérochromatinosomes surnuméraires. L'obtention de ces formes n'est pas difficile, puisqu'il suffira de croiser des plantes diploïdes porteuses du gène H avec des triploïdes (Fernandes, 1949 *a*).

RAPPORTS ENTRE LA CARYOLOGIE ET LA SYSTÉMATIQUE CHEZ LE GENRE *NARCISSUS* L.

Le schéma de la Planche II représente les idiogrammes des espèces fondamentales du genre. L'analyse de ce schéma montre que, quelquefois, les espèces voisines du point de vue de la morphologie externe possèdent des idiogrammes semblables.

En effet: *N. rupicola* Duf., *N. scaberulus* Henriq., *N. calcicola* Mendonça et *N. Watieri* Maire, qui sont voisins du point de vue morphologique, présentent des idiogrammes identiques; *N. Jonquilla* L., *N. Fernandesii* Pedro et *N. viridiflorus* Schousb. possèdent aussi des idiogrammes semblables; *N. elegans* Spach, *N. Tazetta* L. et *N. Broussonetii* Lag. sont aussi pourvus d'idiogrammes qu'on peut considérer du même type; *N. juncifolius* Lag., *N. gaditanus* Boiss. et Reut. et *N. minutiflorus* Willk., finalement, possèdent aussi des idiogrammes comparables.

On peut donc dire que, quelquefois, les caractères caryologiques marchent parallèlement aux caractères de la morphologie externe, et particulièrement remarquable dans cette connexion c'est le cas de *N. serotinus* L., espèce qui, en montrant des caractères intermédiaires entre *N. viridiflorus* Schousb. et *N. elegans* Spach (Bowles, 1934), présente aussi un caryotype intermédiaire entre les sections *Jonquilleae* DC. et *Hermione* (Salisb.) Spreng. La constatation de ce parallélisme nous a permi de résoudre quelques questions litigieuses de la systématique du genre, parmi lesquelles nous pourrons signaler la division de la section *Jonquilleae* DC. en des sous-sections (Fernandes, 1939 *b*), l'éclaircissement de la position systématique

de *N. viridiflorus* Schousb., *N. serotinus* L., *N. elegans* Spach (FERNANDES, 1943) et *N. Broussonetii* Lag. (FERNANDES, 1940) et la résolution du problème des espèces qu'on doit distinguer chez la section *Ganymedes* (Salisb.) Schultes f. (FERNANDES, 1949 *b*).

D'autres fois, on ne peut pas remarquer de parallélisme entre les caractères caryologiques et ceux de la morphologie externe. L'exemple le plus net de ce cas est apporté par *N. juncifolius* Lag., puisque cette espèce, bien qu'appartenant à la section *Jonquilleae* DC. du sous-genre *Eunarcissus*, possède un idiogramme semblable à ceux qu'on trouve chez la section *Ganymedes* du même sous-genre et chez le sous-genre *Corbularia*. Le fait que les idiogrammes du sous-genre *Corbúlaria* et de la section *Ganymedes* du sous-genre *Eunarcissus* sont semblables constitue un autre exemple de ce manque de parallélisme. Un troisième exemple est fourni par *N. poeticus* L. et *N. Pseudo-Narcissus* L., espèces qui possèdent des idiogrammes comparables, bien qu'elles soient morphologiquement assez distinctes (v. Pl. II).

Comme on le sait, la forme des chromosomes peut subir des modifications qui peuvent être provoquées, soit par des réarrangements, soit par l'action de gènes qui contrôlent particulièrement la taille des chromosomes. Étant donné que ces altérations des chromosomes peuvent être indépendantes des modifications de la morphologie externe, on comprend parfaitement que le manque de parallélisme entre les caractères caryologiques et ceux de la morphologie externe n'a rien d'étonnant.

La comparaison de l'idiogramme de *N. Jonquilla* L. avec celui qu'on trouve chez *N. juncifolius* Lag., *N. triandrus* L. et *N. Bulbocodium* L. montre que les chromosomes du deuxième idiogramme sont plus courts que ceux du premier, bien que, en mettant de côté quelques différences qui peuvent être attribuées à des altérations structurelles, nous pourrons constater qu'il y a correspondance en ce qui concerne la forme générale de tous les chromosomes. Il semble donc que la différence entre ces deux idiogrammes doit être attribuée à l'action d'un gène qui contrôle la taille des chromosomes et qui a provoqué leur raccourcissement. De cette façon, nous

croyons que l'évolution de la garniture chromosomique a été influencée par l'action de ce gène, auquel on doit attribuer la différenciation de l'idiogramme de *N. juncifolius* Lag., *N. gaditanus* Boiss. et Reut., *N. minutiflorus* Willk., *N. triandrus* L. et *N. Bulbocodium* L.

Chez *N. Bulbocodium* L. ssp. *obesus*, on a constaté (Fernandes et Neves, 1941) que des chromosomes isobrachiaux ont été engendrés à partir de chromosomes hétérobrachiaux. Dans ce cas, le chromosome isobrachial nous apparaît phylogénétiquement plus récent que l'hétérobrachial. Cependant, en considérant le genre dans son ensemble, la comparaison des idiogrammes montre que les espèces les plus primitives (*N. rupicola*, *N. scaberulus*, *N. calcicola* et *N. Watieri*) possèdent les chromosomes les plus longs (isobrachiaux ou presque et hétérobrachiaux à bras courts relativement longs), tandis que les espèces les plus récentes présentent des chromosomes plus courts, et, en règle, hétérobrachiaux, à bras peu longs, et céphalobrachiaux. De cette façon, nous pourrons dire que l'évolution de la garniture chromosomique chez le genre *Narcissus* a suivi des voies semblables à celles qu'ont été mises en évidence chez *Crepis* (v. Babcock, 1947).

Étant donné que parfois il n'y a pas de parallélisme entre les caractères caryologiques et ceux de la morphologie externe, il faut être extrêmement prudent dans l'application des données caryologiques à la systématique. Pour éviter des fautes, ces données doivent toujours être appliquées en connexion avec les indications fournies par les caractères de la morphologie externe, de l'anatomie, de l'écologie et de la répartition géographique. Cependant, en les employant dans ces conditions, les caractères caryologiques pourront apporter des données précieuses qui pourront contribuer à la solution de beaucoup de questions (v. par exemple Fernandes, 1943).

CLASSIFICATION DU GENRE *NARCISSUS* L.

Dans un travail antérieur (Fernandes, 1934), nous avons exposé en détail l'histoire de la taxonomie du genre *Narcissus* L. De cette façon, nous nous bornerons ici à présenter notre conception actuelle sur la classification du genre, conception

basée sur les données apportées par les études caryologiques, de la morphologie externe, de l'écologie et de la répartition géographique. Cette classification est contenue dans le schéma de la Planche I, qui montre les rapports phylogénétiques des espèces qui nous semblent les plus probables. Nous présentons ci-dessous cette classification plus en détail.

GENRE ***NARCISSUS*** L.

Bulbe tuniqué. Spathe monophylle, uni-multiflore. Périgone hypocratérimorphe ou campanulé-infundibuliforme, à tube obconique, cylindrique ou triquètre, long, court ou subnul. Divisions périgonales subégales, lancéolées, lancéolées-linéaires ou linéaires, obtuses ou acutiuscules, mucronées, dressées, étalées ou réfléchies. Couronne rudimentaire, courte ou longue, cupuliforme, patelliforme, campanulée ou obconique, à bord entier, denticulé, fimbrié, crénelé ou lobé. Étamines 6, insérées sur le tube du périgone; filets droits ou courbs, plus ou moins longs; anthères oblongues ou linéaires, droites ou incurvées, dorsifixes ou subbasifixes. Ovaire 3-loculaire, à loges pluriovulées; ovules bisériés, à placentation axile. Capsule ovoïde, subglobuleuse, globuleuse-trigone ou trigone, 3-valve, à déhiscence loculicide. Graines subglobuleuses ou anguleuses, à test noir. Nombres chromosomiques: $x=7, 10, 11, 13, 15, 25$.

SOUS-GENRE I—***EUNARCISSUS*** PAX excl. sect. *Ajax* (em. Fernandes). Fleur actinomorphe. Tube du périgone étroit, long, cylindrique ou triquètre. Couronne rudimentaire, médiocre ou bien développée, plus courte que les tépales. Étamines droites, inégales, disposées en deux rangs superposés; filets du verticille inférieur plus courts, soudés au tube jusqu'à vers son milieu; ceux du verticille supérieur plus longs, soudés au tube jusqu'à près de la gorge, puis libres; anthères dorsifixes. Nombres chromosomiques: $x = 7, 10, 11, 15$.

SECTION I —***Jonquilleae*** DC. em. Fernandes. Floraison vernale, printanière ou automnale. Feuilles glauques ou vertes, relativement étroites, demi-cylindriques, canaliculées ou subcylindriques-jonciformes. Spathe 1-multiflore.

Fleurs jaunes, rarement blanches ou vertes, peu ou très odorantes. Tube du périgone subtrigonal cylindracé. Tépales étalés ou légèrement réfléchis, plus courts que le tube. Couronne cupuliforme, plus courte que les tépales ou ayant à peu près la même longueur. Nombres chromosomiques: $x=7$.

N. rupicola Duf.
  var. Marvieri Jah. et Maire
N. Watieri Maire
N. scaberulus Henriq.
N. calcicola Mendonça
N. juncifolius Lag.
  var. pallens (Freyn) Fernandes
N. gaditanus Boiss. et Reut.
N. minutiflorus Willk.
N. Jonquilla L.
  var. minor (Haw.) Baker
  var. stellaris Baker
  var. Henriquesii Samp.
N. Fernandesii Pedro
N. jonquilloides Willk.
N. viridiflorus Schousb.

SECTION II — ***Ganymedes*** (SALISB.) SCHULTES F. Floraison printanière. Spathe uni-multiflore. Fleurs jaunes, d'un jaune soufre, pâle-blanchâtres ou blanches. Tube du périgone cylindrique dans sa partie inférieure et faiblement élargi dans la partie supérieure. Tépales relativement étroits, réfléchis. Couronne ample, caliciforme, plus courte que les tépales. Hétérostylie trimorphe ou dimorphe. Nombres chromosomiques: $x=7$.

N. triandrus L.
  var. concolor (Haw.) Baker
  var. pulchellus (Salisb.) Baker
  var. cernuus (Salisb.) Baker
  var. Loiseleurii Rouy
  var. albus (Haw.) Baker

SELTION III — ***Serotini*** PARL. excl. sp. (em. Fernandes). Floraison automnale. Feuilles subfiliformes ou jonciformes.

Hampe non-contemporaine des feuilles, à ombelle 1-multiflore. Tube du périgone triquètre, étroit, allongé. Divisions périgonales blanches, ± étroites, oblongues ou lancéolées-linéaires. Couronne très courte, jaune, à 3 ou 6 lobes. Nombres chromosomiques: $x = 15$.

N. serotinus L.

var. deficiens (Herb.) Baker.

SECTION IV — ***Hermione*** (SALISB.) SPRENG. em. Fernandes. Floraison vernale ou automnale. Feuilles contemporaines des fleurs, relativement larges, canaliculées ou planes, vertes, glaucescentes ou glauques. Hampe ancipitée ou subcylindrique. Spathe multiflore. Fleurs concolores ou bicolores, ± odorantes. Tube du périgone triquètre, cylindrique ou cylindrique inférieurement et élargi en entonnoir supérieurement. Divisions périgonales blanches, d'un blanc sale, d'un jaune pâle ou jaunes, étalées. Couronne rudimentaire à 6 lobes, petite ou médiocre, plus courte que la moitié des tépales, cupuliforme, campanulée, subcylindrique ou presque urcéolée, blanche, citrine, jaune, dorée ou orangée. Nombres chromosomiques: $x = 10, 11$.

N. elegans Spach

var. oxypetalus (Boiss.) Maire

var. intermedius Gay

var. fallax Font-Quer

N. Tazetta L.

ssp. eu-Tazetta Briq.

ssp. lacticolor Baker

ssp. corcyrensis (Herb.) Baker

ssp. patulus (Lois.) Baker

ssp. ochroleucus (Lois.) Baker

ssp. papyraceus (Ker-Gawl.) Baker

ssp. Panizzianus (Parl.) Baker

ssp. canariensis (Herb.) Baker

ssp. pachybolbus (Coss. et Dur.) Baker

ssp. polyanthus (Lois.) Baker

ssp. italicus (Sims) Baker

ssp. Gussonei Rouy

ssp. Bertolonii (Jord.) Baker
ssp. aureus (Lois.) Baker
ssp. cupularis (Salisb.) Baker
N. Broussonetii Lag.

Jonquilleae DC. × **Hermione** (Salisb.) Spreng.

N. juncifolius Lag. × N. Tazetta L.
× N. dubius Gouan
× Magnenii Rouy
N. dubius Gouan × N. juncifolius Lag.
× N. Pujolii Font-Quer
N. Jonquilla L. × N. Tazetta L.
× N. intermedius Lois.

Ganymedes (Salisb.) Schultes f. × **Hermione** (Salisb.) Spreng.

N. triandrus L. × N. Tazetta L.

SECTION V — ***Helena*** (HAW.) ASCHERS. ET GRAEBN. Floraison printanière. Feuilles linéaires, élargies. Hampe comprimée, à 2 angles saillants. Spathe uniflore. Tube du périgone comprimé, allongé, presque aussi long que les tépales. Couronne courte, patelliforme, bordée de rouge. Nombres chromosomiques : $x=7$.

N. poeticus L.
ssp. poeticus Fernandes
var. verbanensis Herb.
var. hellenicus (Pugsley) Fernandes
var. recurvus (Haw.) Fernandes
var. majalis (Curtis) Fernandes
ssp. radiiflorus (Salisb.) Baker
var. stellaris (Haw.) Fernandes
var. poetarum Burb. et Baker
var. exertus Haw.

Jonquilleae DC. × **Helena** (Haw.) Aschers. et Graebn.

N. Jonquilla L. × N. poeticus L.
× N. gracilis Sabine
× N. tenuior Curtis ?

Hermione (Salisb.) Spreng. × **Helena** (Haw.) Aschers. et Graebn.

N. Tazetta L. × N. poeticus L.
× N. Grenieri K. Richter
× N. Loretii Rouy
× N. biflorus Curtis
× N. Poetaz Hort.

SECTION VI — ***Queltia*** (SALISB.) SPRENG. em. Fernandes. Floraison printanière. Feuilles largement linéaires, canaliculées, obtuses, glaucescentes. Hampe à deux angles peu saillants. Spathe uniflore. Tube du périgone vert, cylindrique-infundibuliforme. Divisions périgonales étalées, ovales-oblongues, blanches, d'un jaune pale ou d'un jaune soufre. Couronne obconique, jaune ou citrine, égalant à peu près la moitié des tépales. Nombres chromosomiques: $x=7$.

N. poeticus L. × N. Pseudo-Narcissus L.
× N. incomparabilis Miller
var. aurantia (Haw.) Baker
var. alba (Haw.) Baker
× N. Bernardii DC.
× N. incomparabiliformis Rouy
× N. juratensis Rouy
× N. abscissus R. et Sch.
× N. Boutignyanus Philippe
× N. Macleayi Lindl.
× N. Sabinii Lindl.
× N. Leedsii Hort.

Queltia (Salisb.) Spreng. × **Helena** (Haw.) Aschers. et Graebn.

N. incomparabilis Miller × N. poeticus L.
× N. Barrii Hort.
× N. Burbidgei Hort.

Queltia (Salisb.) Spreng. × **Hermione** (Salisb.) Spreng.

N. incomparabilis Miller × N. Tazetta L.
× N. orientalis L. ?

SOUS-GENRE II—*AJAX* SPACH. Spathe uniflore. Fleurs actinomorphes. Tube du périgone turbiné ou obconique. Divisions périgonales lancéolées, ovales ou elliptiques, ayant à peu près la même longueur que la couronne. Couronne grande, campanulée ou tubuleuse, plus longue que le tube. Étamines droites, égales, à filets soudés inférieurement avec le tube dans une petite étendue, puis libres; anthères linéaires, subbasifixes, enveloppant le style; style droit, plus long que les étamines. Nombres chromosomiques: $x=7$.

N. Pseudo-Narcissus L. (1)
- ssp. Pseudo-Narcissus Fernandes
  - var. platylobus (Jord.) Pugsley
  - var. festinus (Jord.) Pugsley
  - var. porrigens (Jord.) Pugsley
  - var. montinus (Jord.) Pugsley
  - var. minoriformis Pugsley
  - var. humilis Pugsley
  - var. insignis Pugsley
- ssp. pallidiflorus (Pugsley) Fernandes
  - var. intermedius Pugsley
- ssp. macrolobus (Jord.) Fernandes
  - var. pallescens Pugsley
- * ssp. Gayi (Hénon) Fernandes
  - * var. praelongus (Jord.) Pugsley
- ssp. nobilis (Schultes f.) Fernandes
- ssp. leonensis (Pugsley) Fernandes
- * ssp. moschatus (L.) Baker
- ssp. alpestris (Pugsley) Fernandes
- ssp. tortuosus (Haw.) Fernandes
- * ssp. albescens (Pugsley) Fernandes
- * ssp. bicolor (L.) Baker
  - * var. lorifolius (Herb.) Pugsley
- ssp. abscissus (Schultes f.) Fernandes
  - var. serotinus (Jord.) Pugsley
  - var. tubulosus (Jord.) Pugsley
  - var. graciliflorus Pugsley

---

(1) Nous signalons d'un astérisque les taxons inconnus à l'état spontané, mais dont l'existence à cet état est cependant probable.

ssp. major (Curtis) Baker
var. propinquus Herb.
var. spurius (Haw.) Pugsley
var. concolor (Jord.) Pugsley
ssp. longispathus (Pusgley) Fernandes
* ssp. obvallaris (Salisb.) Fernandes
var. maximus (Haw.) Pugsley
var. toscanus Pugsley
var. concolor Bromf.
ssp. pisanus (Pugsley) Fernandes
ssp. confusus (Pugsley) Fernandes
ssp. portensis (Pugsley) Fernandes (1)
ssp. nevadensis (Pugsley) Fernandes (1)
N. minor L.
var. pumilus (Salisb.) Fernandes
var. conspicuus Haw.
var. parviflorus (Jord.) Fernandes
var. provincialis (Pugsley) Fernandes
N. asturiensis (Jord.) Pugsley
var. Lagoi (Merino) Fernandes
N. cyclamineus DC.
N. Pseudo-Narcissus × N. cyclamineus Fernandes
N. cyclamineus × N. asturiensis Hort.

Ajax Spach × **Jonquilleae** DC.

N. Pseudo-Narcissus L. × N. juncifolius Lag.
× N. Buxtonii K. Richt.
N. Pseudo-Narcissus L. × N. Jonquilla L.
× N. odorus L.
× N. lobatus Poir.
× N. trilobus L.
× N. infundibulum L.
N. minor L. × N. Jonquilla L.
× N. laetus DC.

(1) Une étude plus détaillée de ces deux sous-espèces s'impose, dans le but d'établir leur véritable catégorie et leur position systématique.

Queltia (Salisb.) Spreng. × **Ajax** Spach

N. incomparabilis Miller × N. Pseudo-Narcissus L.
× N. Backhousei Hort.

Ajax Spach × **Ganymedes** (Salisb.) Schultes f.

N. Pseudo-Narcissus L. × N. triandrus L. var. cernuus (Salisb.) Baker
× N. Taitii Henriq.
× N. Johnstonii Pugsley

Ajax Spach × **Helena** (Haw.) Aschers. et Graebn.

N. cyclamineus × N. poeticus Hort.

SOUS-GENE III — ***CORBULARIA*** (SALISB.) PAX. Spathe uniflore. Fleurs zygomorphes. Tube du périgone obconique, aussi long que la couronne. Divisions périgonales étroites, lancéolées-linéaires. Étamines courbes-ascendentes, déjétées d'un côté; filets insérés vers la base du tube; anthères versatiles, incurvées, dorsifixes. Nombres chromosomiques: $x=7$, 13.

N. Bulbocodium L.
ssp. vulgaris (Cout.) Maire
var. genuinus Cout.
var. conspicuus (Haw.) Burb.
var. citrinus Baker
var. nivalis (Graells) Maire
var. Graellsii (Webb) Baker
ssp. obesus (Salisb.) Maire
ssp. Romieuxii (Br. Bl. et Maire) Maire
var. mesatlanticus Maire
var. rifanus Emb. et Maire
ssp. albidus (Emb. et Maire) Maire
var. eu-albidus Emb. et Maire
var. zaianicus M., We. et Wi.
ssp. tananicus Maire
ssp. monophyllus (Dur.) Maire
var. typicus Maire
var. foliosus Maire
var. kesticus Maire et Wilczek

ssp. praecox Gatt. et Weiller
var. eu-praecox Emb. et Maire
var. paucinervis Maire

Corbularia (Salisb.) Pax × **Ganymedes** (Salisb.) Schultes f.

N. Bulbocodium L. × N. triandrus L. var. cernuus Fernandes

Corbularia (Salisb.) Pax × **Ajax** Spach

N. Bulbocodium × N. Pseudo-Narcissus Baker

Corbularia (Salisb.) Pax × **Hermione** (Salisb.) Spreng.

N. Bulbocodium L. × N. Tazetta L.
× N. Montaz Hort.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. Chez le genre *Narcissus* L., on trouve une série aneuploïde de nombres chromosomiques, constituée par les chiffres 7, 10, 11, 13, 15 et 25, dont les trois premiers sont des nombres de base d'autant de séries polyploïdes.

2. L'évidence obtenue à partir des données de la morphologie externe, de la caryologie et de la répartition géographique montre que le nombre de base primaire est 7 et que les chiffres 10, 11, 13, 15 et 25 ont été secondairement dérivés de 7.

3. On trouve chez le genre *Narcissus* L. trois caryotypes distincts : le premier, correspondant au nombre de base 7, se présente constitué surtout par des chromosomes isobrachiaux et hétérobrachiaux à bras courts relativement longs ; le deuxième, correspondant aux nombres de base 10 et 11, se montre constitué principalement par des chromosomes hétérobrachiaux à bras courts relativement petits et par des chromosomes céphalobrachiaux ; et le troisième, correspondant à une seule espèce à n = 15, présente des caractères intermédiaires entre les deux autres.

4. Malgré l'existence de trois caryotypes, les caractères de la morphologie externe, l'écologie, la répartition géogra-

phique et la caryologie montrent que le genre a eu une origine monophylétique.

5. Les données concernant la répartition géographique indiquent que le centre d'origine et de dispersion du genre *Narcissus* L. a été la région qui a été jadis constituée par une partie du sud-est d'Espagne et la région émergée correspondant à la partie la plus occidentale de la Méditerranée actuelle reliée au nord d'Afrique.

6. Les données caryologiques semblent montrer que le genre a pris son origine à partir d'une espèce ancestrale pourvue d'une garniture chromosomique correspondant à la formule $2n = 2\,LL + 4\,Ll + 2\,Lp + 2\,ll + 2\,lp + 2\,Pp'$, semblable à celle qu'on trouve à présent chez *N. rupicola* Duf., *N. Watieri* Maire, *N. scaberulus* Henriq. et *N. calcicola* Mendonça.

7. Aux points de vue écologique et de la morphologie externe, il est probable que l'espèce ancestrale serait une petite plante bulbeuse, croissant dans les fissures des rochers des montagnes où quelque humus s'est accumulé, à feuilles étroites, vertes, étalées, à hampe florale cylindrique, à ombelle pluriflore et à fleurs longuement pédonculées, petites, jaunes, non-odorantes, à tube relativement large, à couronne rudimentaire et à étamines libres, égales ou sub-égales.

8. L'évidence de la répartition géographique semble montrer que l'espèce ancestrale a fait son apparition au commencement du Quaternaire.

9. En tenant compte des données de la morphologie externe, de la caryologie et de la distribution géographique, nous avons essayé de reconstituer l'histoire probable des espèces du genre depuis leur apparition jusqu'à présent.

10. Les relations phylogénétiques des espèces du genre qui nous semblent les plus probables d'après nos études sont montrées sur le diagramme de la Planche I (v. aussi la fig. 17).

11. Les processus qui ont agi et agissent encore dans l'évolution du genre sont analysés et énumérés, en même temps que leur importance est discutée.

12. En ce qui concerne les agents du milieu auxquels doivent être imputées les altérations génotypiques responsables pour la différenciation des taxons nouveaux à l'état spontané, nous croyons que le rôle le plus important a été joué par les chocs thermiques et les radiations ultra-violettes.

13. Nous basant sur les connaissances acquises sur la caryologie du genre, nous présentons quelques suggestions concernant les méthodes au moyen desquelles des formes horticoles nouvelles pourront être obtenues.

14. Les rapports entre la caryologie et la systématique sont analysés. Quelquefois, on constate qu'il y a un parallélisme étroit entre les caractères caryologiques et ceux de la morphologie externe. D'autres fois, un tel parallélisme n'existe pas. De cette façon, il faut être extrêmement prudent en ce qui concerne l'application des données caryologiques à la systématique. Cependant, lorsque les caractères caryologiques sont employés en connexion avec les données provenant des autres sources d'information (morphologie externe, anatomie, écologie et répartition géographique), ils pourront contribuer d'une façon décisive à la solution de beaucoup de questions. Les données caryologiques nous semblent même indispensables en ce qui concerne l'établissement des rapports phylogénétiques, puisqu'elles peuvent donner des indications qui n'ont pas été encore signalées par les caractères de la morphologie externe. Cependant, une étude plus soigneuse de ces caractères pourra apporter la confirmation des indications fournies par la caryologie.

15. Nous basant sur les études effectuées, nous proposons une nouvelle classification du genre *Narcissus* L.

BIBLIOGRAPHIE

Babcock, E. B.
1947 The genus *Crepis*. Part one. The taxonomy, phylogeny, distribution, and evolution of *Crepis*. *Univ. Calif. Publ. Bot.*, **21**, 1-197.

Babcock, E. B., Stebbins, G. L. et Jenkins, J. A.
1937 Chromosomes and phylogeny in some genera of *Crepidinae*. *Cytologia*, Fujii Jub. Vol., 188-210.

BAKER, J. G.
1888 *Handbook of the* Amaryllideae. London.
BOWLES, E. A.
1934 *A handbook of* Narcissus. Martin Hopkinson, Ltd. London.
BROTERO, F. A.
1804 *Flora Lusitanica.* Olissipone.
BURBIDGE, F. W. et BAKER, J. G.
1875 *The* Narcissus: *its history and culture.* London.
CADEVALL, J.
1933 *Flora de Catalunya.* Barcelona.
CALVERT, A. F.
1929 *Daffodil growing for pleasure and profit.* Dulau & Co. Ltd. London.
CHEVALIER, A.
1924 Une excursion aux îles Glénans. *Bull. Soc. Bot. France,* **71,** 523-546.
COLMEIRO, M.
1889 *Enumeración y revisión de las plantas de la Península Hispano-Lusitana é islas Baleares,* **5.** Madrid.
COUTINHO, A. X. P.
1913 *A Flora de Portugal.* Ed. I. Lisboa.
1939 *A Flora de Portugal.* Ed. II. Lisboa.
EMBERGER, L. et MAIRE, R.
1941 *Catalogue des plantes du Maroc,* **4.** Alger.
FERNANDES, A.
1933 Novos estudos cariológicos no género *Narcissus* L. *Rev. Fac. Ciênc. Univ. Coimbra,* **3,** 53.
1934 Nouvelles études caryologiques sur le genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **9** (2.ª série), 3-195.
1937 *a* Sur l'origine du *Narcissus dubius* Gouan. *Bol. Soc. Broteriana,* **12** (2.ª série), 93-118.
1937 *b* Le problème de *Narcissus Tazetta* L. I. Les formes à 22 chromosomes somatiques. *Bol. Soc. Broteriana,* **12** (2.ª série), 159-219.
1939 *a* Sur l'origine du *Narcissus jonquilloides* Willk. *Scientia Genetica,* **1,** 16-61.
1939 *b* Sur la caryo-systématique du groupe *Jonquilla* du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **13** (2.ª série), 487-544.
1939 *c* Sur le comportement d'un chromosome surnuméraire pendant la mitose. *Scientia Genetica,* **1,** 141-166.
1940 Sur la position systématique et l'origine de *Narcissus Broussonetii* Lag. *Bol. Soc. Broteriana,* **14** (2.ª série), 53-66.
1943 Sur la caryo-systématique de la section *Autumnales* Gay du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **17** (2.ª série), 5-54.
1945 Sôbre a origem de *Narcissus Johnstonii* Pugsley. *Anales del Jardin Botánico de Madrid,* **6,** 145-158.
1949 *a* Le problème de l'hétérochromatinisation chez *Narcissus Bulbocodium* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **23** (2.ª série), 5-88.
1949 *b* Sur la caryo-systématique de la section *Ganymedes* (Salisb.) Schult.

f. du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana*, **23** (2.ª série), 177-218.
1950 La méiose chez *Narcissus Poetaz* «Alsace». *Genética Ibérica*, **2**, 149-174.

FERNANDES, A. et FERNANDES, R.
1946 Sur la caryo-systématique du sous-genre *Ajax* Spach du genre *Narcissus* L. *Acta Universitatis Conimbrigensis*.

FERNANDES, A., GARCIA, J. et FERNANDES, R.
1948 Herborizações nos domínios da Fundação da Casa de Bragança. I. Vendas Novas. *Memórias Soc. Broteriana*, **4**, 5-97.

FERNANDES, A. et NEVES, J. B.
1941 Sur l'origine des formes de *Narcissus Bulbocodium* L. à 26 chromosomes. *Bol. Soc. Broteriana*, **15** (2.ª série), 43-132.

FIORI, A. et PAOLETTI, G.
1896-1898 *Flora analitica d'Italia*, **1**. Padova.

HENRIQUES, J. A.
1887 Amaryllideas de Portugal. *Bol. Soc. Broteriana*, **5** (1.ª série), 159-174.

JAHANDIEZ, E. et MAIRE, R.
1931 *Catalogue des plantes du Maroc*, **1**. Alger.
1934 *Catalogue des plantes du Maroc*, **2**. Alger.

LÁZARO É IBIZA, B.
1906 *Compendio de la flora Española*, **1**. Madrid.

LEMOS-PEREIRA, A.
1940 Sôbre a cariologia de *Narcissus odorus* L. e *N. gracilis* Sab. *Bol. Soc. Broteriana*, **14** (2.ª série), 67-96.

LEVAN, A.
1935 Cytological studies in *Allium*. VI. The chromosome morphology of some diploid species of *Allium*. *Hereditas*, **20**, 289-330.

LEWITSKY, G. A.
1931 The karyotype in systematics. *Bull. Appl. Bot. Pl. Breed.*, **27**, 220-240.

NAGAO, S.
1933 Number and behavior of chromosomes in the genus *Narcissus*. *Mem. Çoll. Sci. Kyoto Imp. Univ. B.*, **8**, 81-200.

PARLATORE, F.
1858 *Flora Italiana*, **3**. Firenze.

PAX, F. et HOFFMANN, K.
1930 *Amaryllidaceae* in ENGLER, A. *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, **15 a**, 391-430. Leipzig.

PEDRO, J. G.
1947 Uma nova espécie de *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana*, **21** (2.ª série), 59-68.

PUGSLEY, H. W.
1915 *Narcissus poeticus* and its allies. *J. Bot.*, **53**, Supp. II, 1-44.
1933 A monograph of *Narcissus*, subgenus *Ajax*. *J. R. Hort. Soc.*, **58**, 17-93.

Pugsley, H. .W
1937 Notes on Poet's *Narcissi*. *J. Bot.*, **75**, 53-58.
1939 Notes on *Narcissi*. *J. Bot.*, **77**, 333-337.

Rouy, G.
1912 *Flore de France*, **13**. Paris.

Sampaio, G.
1947 *Manual da Flora Portuguesa*. Ed. II. Porto.

Stomps, T. J.
1919 Gigas-Mutation mit und ohne Verdoppelung der Chromosomenzahl. *Z. I. Abs. Vererb.*, **21**, 65-90.

Vasconcellos, J. C.
1940 Anotações do Herbário do Instituto Superior de Agronomia. *Anais do Instituto Superior de Agronomia*, **11**, 7-17.

Willkomm, M.
1893 *Supplementum Prodromi Florae Hispanicae*. Stuttgartiae.

Willkomm, M. et Lange, J.
1861 *Prodromus Florae Hispanicae*, **1**. Stuttgartiae.

ERRATA

PAGE	LIGNE	AU LIEU DE	LIRE
119	15, 27	croîssent	croissent
126	3	issue	issu
149	7	valée	vallée
151	3 de la Note	ou	on
155, etc.		taxons	« taxa »
158	11	ssp. *abscissus*	ssp. *muticus*
158	11	Shultes	Schultes
158	27	(Jord)	(Jord.)
159	Schéma	ssp. abscissus	ssp. muticus
164	27	procesus	processus
178	37	SELTION	SECTION
180	22	ssp. poeticus Fernandes	ssp. poeticus
182	11	ssp. Pseudo-Narcissus Fernandes	ssp. Pseudo-Narcissus
182	25	ssp. nobilis (Schultes f.) Fernandes	ssp. nobilis (Haw.) Fernandes
182	33	ssp. abscissus (Schultes f.) Fernandes	ssp. muticus (Gay) Baker
183	16	var. conspicuus Haw.	var. conspicuus (Haw.) Fernandes
184	11	SOUS-GENE	SOUS-GENRE
184	18	ssp. vulgaris (Cout.) Maire	ssp. vulgaris Cout.
184	22	var. nivalis (Graells) Maire	var. nivalis (Graells) Baker

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Schéma montrant les relations phylogénétiques des espèces et la classification du genre *Narcissus* L. Les espèces, et dans quelques cas les sous-espèces et les variétés, sont représentées par des cercles, au dedans desquels les chiffres indiquent les nombres chromosomiques respectifs. Les cercles en pointillé correspondent à des formes polyploïdes qui n'ont pas été encore rencontrées à l'état spontané, mais dont l'existence y est probable. Les croix indiquent que les formes n'existent plus. N. S. signifie ancêtre de la section *Serotini* Parl. et N. H. ancêtre de la section *Hermione* (Salisb.) Spreng. Les croisements dont d'autres formes ont été issues sont indiqués par des lignes à traits et à flèches qui, en partant des parents, convergent vers les hybrides. Explication détaillée dans le texte. Confronter avec les schémas de la Planche II et de la fig. 17 et avec le texte du chapitre « Classification du genre *Narcissus* L. ».

Note: Au lieu de *Queltia* (Haw.), lire *Queltia* (Salisb.) Spreng. et au lieu de *N. PS.* var. *hispanicus* Gouan, lire *N. PS.* ssp. *major* (Curtis) Baker.

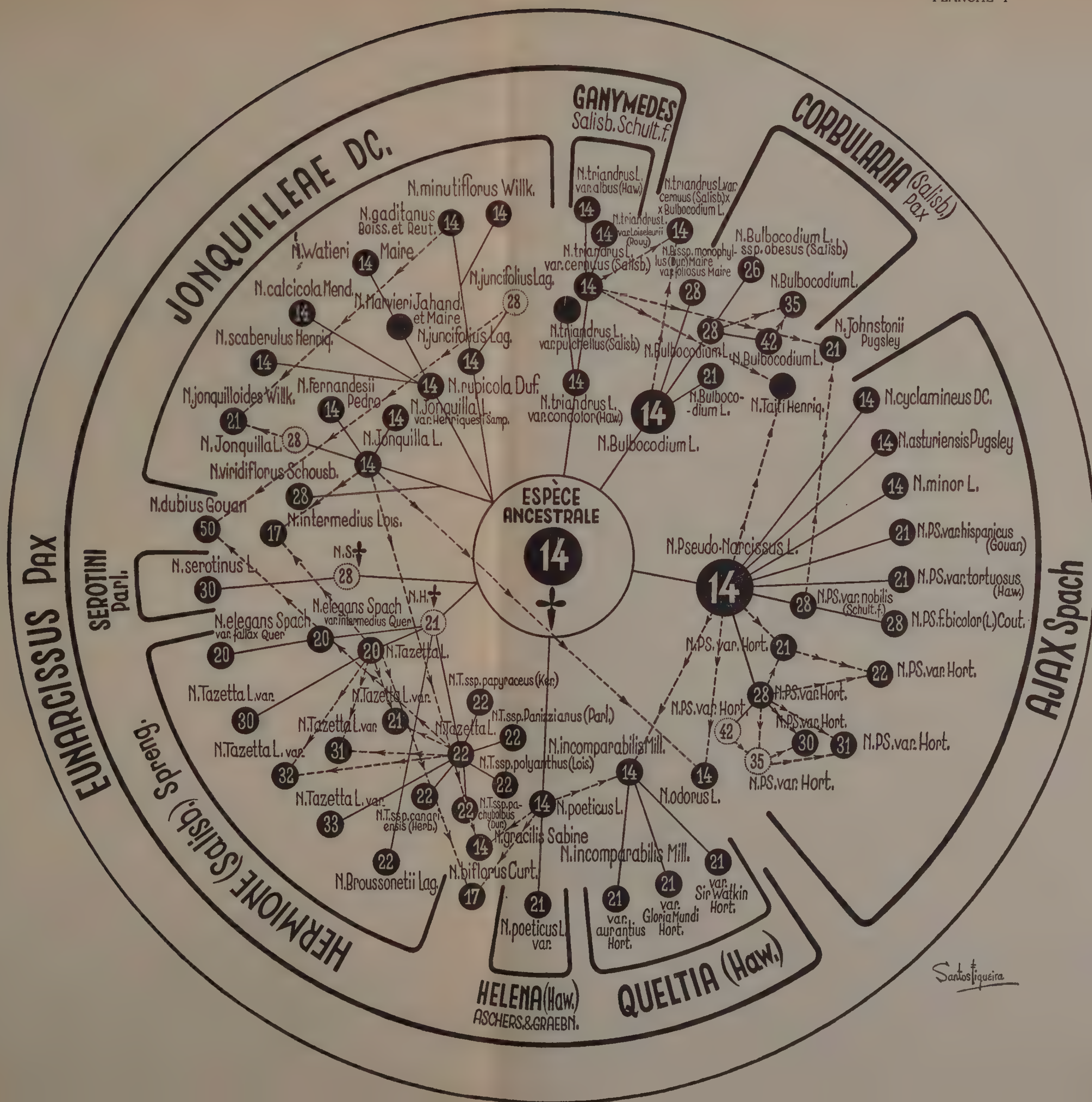
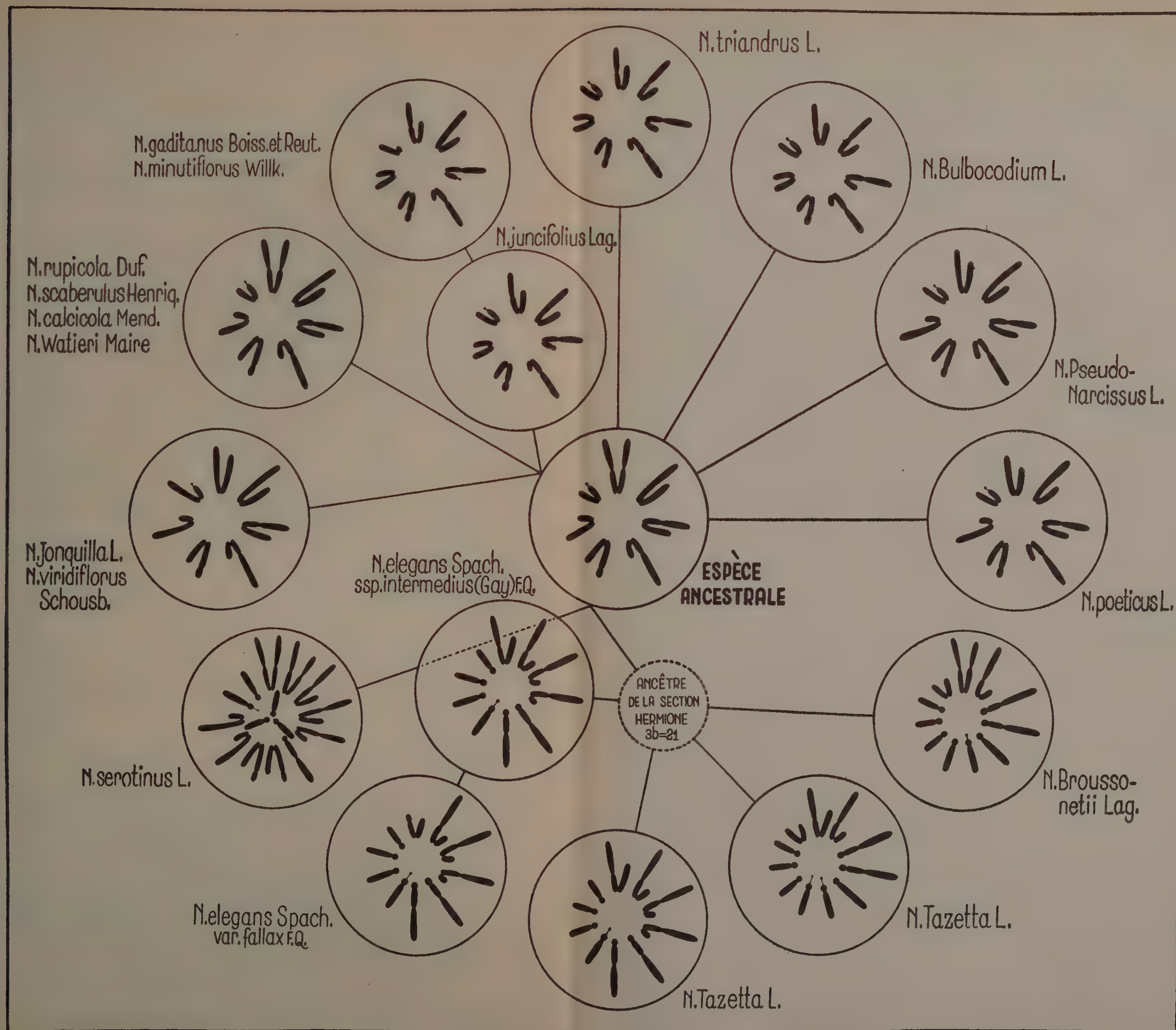

ESPÈCE ANCESTRALE
14
JONQUILLEAE DC.
GANYMEDES Salisb. Schult. f.
CORBULARIA (Salisb.) Pax
AJAX Spach
QUELTIA (Haw.)
HELENA (Haw.) ASCHERS.&GRAEBN.
HERMIONE (Salisb.) Spreng.
EUNARCISSUS Pax
SEROTINI Parl.
N.minutiflorus Willk.
N.gaditanus Boiss. et Reut.
N.Watieri Maire
N.calcicola Mend.
N.Marvieri Jahand. et Maire
N.juncifolius Lag.
N.scaberulus Henriq.
N.rupicola Duf.
N.Fernandesii Pedro
N.jonquilloides Willk.
N.Jonquilla L. var. Henriquesi Samp.
N.Jonquilla L.
N.viridiflorus Schousb.
N.dubius Gouan
N.intermedius Lois.
N.S.
N.H.
N.serotinus L.
N.elegans Spach var. fallax Quer
N.elegans Spach var. intermedius Quer
N.Tazetta L.
N.Tazetta L. var.
N.T. ssp. papyraceus (Ker.)
N.T. ssp. Panizzianus (Parl.)
N.T. ssp. polyanthus (Lois.)
N.T. ssp. canariensis (Herb.)
N.T. ssp. pachybolbus (Dur.)
N.Broussonetii Lag.
N.biflorus Curt.
N.gracilis Sabine
N.poeticus L.
N.poeticus L. var.
N.incomparabilis Mill.
N.odorus L.
var. aurantius Hort.
var. Gloria Mundi Hort.
var. Sir Watkin Hort.
N.triandrus L. var. albus (Haw.)
N.triandrus L. var. cernuus (Salisb.) x x Bulbocodium L.
N.triandrus L. var. Loiseleurii (Rouy)
N.triandrus L. var. cernuus (Salisb.)
N.triandrus L. var. pulchellus (Salisb.)
N.triandrus L. var. concolor (Haw.)
N.B. ssp. monophyllus (Dur.) Maire var. foliosus Maire
N.Bulbocodium L. ssp. obesus (Salisb.)
N.Bulbocodium L.
N.Johnstonii Pugsley
N.Taiti Henriq.
N.cyclamineus DC.
N.asturiensis Pugsley
N.minor L.
N.Pseudo-Narcissus L.
N.PS. var. hispanicus (Gouan)
N.PS. var. tortuosus (Haw.)
N.PS. var. nobilis (Schult. f.)
N.PS. f. bicolor (L.) Cout.
N.PS. var. Hort.
Santos Tiqueira

PLANCHE II

Schéma montrant l'évolution de la garniture chromosomique chez le genre *Narcissus* L. Confronter avec le schéma de la Planche I. Explication détaillée dans le texte, particulièrement dans le chapitre « Rapports entre la caryologie et la systématique chez le genre *Narcissus* L. ».



N. triandrus L.
N. gaditanus Boiss. et Reut.
N. minutiflorus Willk.
N. Bulbocodium L.
N. juncifolius Lag.
N. rupicola Duf.
N. scaberulus Henriq.
N. calcicola Mend.
N. Watieri Maire
N. Pseudo-Narcissus L.
N. Jonquilla L.
N. viridiflorus Schousb.
N. elegans Spach. ssp. intermedius (Gay) F.Q.
ESPÈCE ANCESTRALE
N. poeticus L.
ANCÊTRE DE LA SECTION HERMIONE 3b=21
N. serotinus L.
N. Broussonetii Lag.
N. elegans Spach. var. fallax F.Q.
N. Tazetta L.
N. Tazetta L.

NOMENCLATURA BOTÂNICA DA OLIVEIRA E DO ZAMBUJEIRO

por

JOÃO DO AMARAL FRANCO
(Instituto Superior de Agronomia de Lisboa)

Em ambas as edições da *Flora de Portugal* de Pereira Coutinho, a espécie *Olea europaea* L. é subdividida nas duas seguintes variedades: var. α. *Oleaster* (Hoffgg. et Link) DC. e var. β. *sativa* (Hoffgg. et Link) DC., a primeira referente ao zambujeiro e a segunda à oliveira. Porém, estas designações varietais não estão de acordo com as actuais Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica e, por isso, vamos estudar no presente artigo a nomenclatura devida.

Na 1.ª edição de *Species Plantarum* (1753), Linné reconheceu apenas duas espécies no género *Olea* L., a saber: *O. europaea* L. e *O. capensis* L., esta última uma espécie muito distinta e originária do Cabo da Boa Esperança. Na *Olea europaea* L., Linné não distingue variedades, mas, pela sinonímia apresentada, torna-se evidente que este autor considerou a oliveira e o zambujeiro como identicos. A descrição lineana é como segue:

« OLEA

europaea. 1. OLEA foliis lanceolatis.
Olea foliis lanceolatis, ramis teretiusculis. *Hort. cliff.* 4. *Mat. med.* 10. *Roy. lugdb.* 398.
Olea sativa *Bauh. pin.* 472.
Olea foliis lanceolatis, ramis tetragonis. *Hort. cliff.* 4. *Roy. lugdb.* 399.
Olea sylvestris, folio duro subtus incano. *Bauh. pin.* 472.
Habitat in Europa *australi.* ♄ »

Os dois primeiros sinónimos correspondem à oliveira e os dois últimos ao zambujeiro.

Na 2.ª edição de *Species Plantarum* (1762), Linné distingue

já o zambujeiro como var. β, mas não lhe atribue nome. Esta escolha de Linné faz com que o tipo nomenclatural da espécie *Olea europaea* L. seja a oliveira.

Miller (1768) descreve três espécies europeias no género *Olea* L., a saber: *O. gallica* Mill., *O. hispanica* Mill. e *O. sylvestris* Mill. Às duas primeiras atribue sinónimos de Tournefort, «*Olea fructu oblongo minori* Tourn. Inst. R. H. 599» e «*Olea fructu maximo* Tourn. Inst. R. H. 599» respectivamente, e à terceira o sinónimo de Bauhin (*Olea sylvestris, folio duro, subtus incano.* C. B. P. 472) já referido por Linné. Se bem que aqueles três binomes, criados por Miller, estejam hoje reunidos com a *Olea europaea* L., de que Miller os separou, esses binomes não podem ser considerados ilegítimos, porquanto nenhum deles, tal como Miller os limitou, inclue o tipo de Linné.

Aiton (1789) descreve, na *Olea europaea* L., diversas variedades, baseadas em caracteres vegetativos de exemplares de oliveira, conquanto alguns autores queiram ter visto o zambujeiro representado pela var. *buxifolia* Ait., caracterizada por: folhas oblongo-ovais e ramos patentes divaricados. No entanto, como estes caracteres aparecem tão bem em indivíduos de zambujeiro como de oliveira, torna-se evidente que deixa de ser possível atribuir com rigor um nome varietal neles baseado quer ao zambujeiro quer à oliveira, em particular. Por esta razão, parece-nos que o nome *O. e* var. *buxifolia* Ait. deva ser considerado *nomen dubium*, muito embora haja grande probabilidade de ter sido estabelecido sobre um exemplar de oliveira.

Brotero (1804) foi o primeiro autor que denominou o zambujeiro como variedade da *Olea europaea* L., designando-o *O. e.* var. *sylvestris* Brot. e não mencionando qualquer sinónimo.

De Candolle (1805) considera, na *Olea europaea* L., as duas seguintes variedades: α. *silvestris* (Mill.) DC. e β. *culta* DC., descrevendo nesta última muitas subvariedades que correspondem a formas cultivadas da oliveira.

Em 1809, Hoffmansegg e Link dividiram a *Olea europaea* L. em duas espécies. Chamaram *Olea Oleaster* ao zambujeiro e *Olea sativa* à oliveira. Mesmo que se pudessem considerar o zambujeiro e a oliveira como espécies independentes, os binomes

dados por Hoffmansegg e Link não poderiam ser usados, porquanto *Olea Oleaster* é um sinónimo posterior do nome válido *Olea sylvestris* Mill. e *Olea sativa* é ilegítimo, porque Hoffmansegg e Link lhe dão como perfeito sinónimo o nome válido mais antigo *Olea europaea* L.

Loudon (1838) considera o zambujeiro como o tipo de *Olea europaea* L., mas sem lhe atribuir nome varietal a que refere os sinónimos: *O. Oleaster* Hoffmansegg, *O. europaea communis* Ait. e *O. sylvestris* Mill., e denomina a oliveira: *Olea europaea sativa*, com os sinónimos: *O. sativa*, Hoffmansegg e *O. europaea* Michx. A atribuição do sinónimo *O. europaea communis* Ait. ao zumbujeiro é incorrecta, porquanto Aiton estabeleceu este nome varietal sobre um exemplar cultivado de oliveira.

Em 1844, De Candolle denomina o zambujeiro: *Olea europaea α. Oleaster* (Hoffgg. et Link) DC. e a oliveira: *O. europaea β. sativa* (Hoffgg. et Link) DC., desprezando, assim, sem fundamento, os nomes, que, em 1805, já houvera dado na mesma categoria para os mesmos tipos. Note-se que o nome varietal *Olea europaea* var. *sativa* (Hoffgg. et Link) DC. é ilegítimo como nova combinação por estar baseado no nome ilegítimo *Olea sativa* Hoffgg. et Link, mas, à face do art. 69 das Regras de Nomenclatura Botânica (1935), pode ser legitimado considerando-se como o novo nome: *O. europaea* var. *sativa* DC. O mesmo critério é aplicável ao homónimo anterior de Loudon.

Como é fácil de verificar pelas citações acima feitas, uns autores consideraram a oliveira como variedade típica da espécie *Olea europaea* L., enquanto que outros o zambujeiro. Sob o ponto de vista genético, não oferece dúvida o considerar o zambujeiro como tipo específico, por tratar-se da forma espontânea. Porém, sob o ponto de vista nomenclatural, não podemos assim proceder, visto que Linné, na 2.ª edição de *Species Plantarum*, designou o zambujeiro pelo símbolo varietal β.

Coma adeante veremos na sinonímia apresentada, uns autores admitiram o zambujeiro e a oliveira como duas espécies distintas, outros como duas subespécies duma mesma espécie e outros, ainda, como duas variedades duma só espécie. Em virtude de a oliveira não ser mais do que um conjunto de

formas obtidas pela cultura a partir do zambujeiro, o que é fácil de verificar pelas diversas formas de transição existentes entre ambos e pelo facto de, por sementeira, castas de oliveira reverterem em zambujeiro, parece-nos mais adequado considerar a oliveira e o zambujeiro na categoria de variedade.

O nome a usar para o zambujeiro é *Olea europaea* L. var. *sylvestris* Brot. Para a oliveira, deveria ser *Olea europaea* L. var. *communis* Ait. No entanto, como se trata do tipo específico e de acordo com o art. 28 bis das Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica, proposto pelo Prof. LANJOUW e aprovado no VII Congresso Internacional de Botânica, reunido em Julho de 1950 em Estocolmo, a que assistimos, deve ser *Olea europaea* L. var. *europaea*. O mencionado artigo 28 bis diz que o tipo duma espécie, desde que esta compreenda grupos subordinados, é representado pela repetição do epíteto específico sem autor na categoria ou nas categorias dos demais grupos subordinados.

Em resumo, as sinonímias, respectivamente, da oliveira e do zambujeiro, são como segue:

Olea europaea L., Sp. Pl. ed. 1: 8 (1753).

α. var. ***europaea***.

O. *europaea* L., Sp. Pl. ed. 1: 8 (1753) p. p.; ed. 2, I: 11 (1762) excl. var. β.

O. *gallica* Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 1 (1768).

O. *hispanica* Mill. op. cit. n.º 2.

O. *europaea* [var.] α. *communis* Ait., Hort. Kew. ed. 1, I: 13 (1789).

O. *europaea* [var.] β. *longifolia* Ait., loc. cit.

O. *europaea* [var.] γ. *latifolia* Ait., loc. cit.

O. *europaea* [var.] δ. *ferruginea* Ait., loc. cit.

O. *europaea* [var.] ε. *obliqua* Ait., loc. cit.

O. *lancifolia* Moench, Meth. 478 (1794) nom. illegit.

O. *europaea* [var.] β. *culta* [DC. in] Lam. et DC., Fl. Franç. ed. 3, III: 497 (1805) «*Culta*».

O. *sativa* Hoffgg. et Link, Fl. Port. I: 388 (1809) nom. illegit.

O. europaea [var.] *sativa* [Hoffmansegg] Loud., Arb. et Fruticet. Brit. II: 1207 (1838).

O. europaea race II. *sativa* [Hoffgg. et Link] Rouy, Fl. Fr. X: 224 (Febr.-1908) nom. illegit.

O. europaea ssp. *sativa* [Hoffgg. et Link] Rouy ex Hegi, Ill. Fl. Mittel-Eur. V (3): 1936 (1927).

β. var. ***silvestris*** Brot., Fl. lusit. I: 10 (1804) « *sylvestris* ».

O. europaea L., Sp. Pl. ed. 1: 8 (1753) p. p.

O. europaea β. L., Sp. Pl. ed. 2, I: 11 (1762).

O. sylvestris Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 3 (1768).

O. europaea sylvestris Brot., Comp. Bot. II: 352 (1788) nom. nud.

? *O. europaea* [var.] ζ. *buxifolia* Ait., Hort. Kew. ed. 1, I: 13 (1789) nom. dub.

O. europaea [var.] α. *silvestris* (Mill.) [DC. in] Lam. et DC., Fl. Franç. ed. 3, III: 497 (1805) «*Silvestris*».

O. Oleaster Hoffgg. et Link, Fl. Port. I: 387 (1809).

O. europaea [var.] α. *Oleaster* (Hoffgg. et Link) DC., Prodr. VIII: 284 (Mart.-1844).

O. europaea race I. *silvestris* (Mill.) Rouy, Fl. Fr. X: 223 (Febr.-1908) nom. illegit.

O. europaea ssp. *silvestris* (Mill.) Rouy ex Hegi, Ill. Fl. Mittel-Eur. V. (3): 1936 (1927).

NOTAS SOBRE A FLORA LENHOSA DA MATA DO BUÇACO

por

JOÃO DO AMARAL FRANCO
(Instituto Superior de Agronomia de Lisboa)

A Mata do Buçaco é sem dúvida, a seguir ao Parque da Pena em Sintra, a colecção dendrológica mais rica de Portugal. Se bem que, por acção do ciclone de 15 de Fevereiro de 1941, muitos exemplares notáveis tivessem sido derrubados, o facto é que actualmente ainda se encontra na Mata grande cópia de plantas lenhosas interessantes. Em comparação com o já citado Parque da Pena, é certo que a Mata do Buçaco apresenta-nos menos variedade de plantas, mas nela se encontram, para as diferentes espécies, exemplares de maior porte e de fuste mais bem conformado.

O presente trabalho não é mais do que uma simples contribuição para a identificação das espécies lenhosas existentes no Buçaco. Baseia-se apenas em determinações e colheitas de material de herbário acompanhadas do respectivo estudo de campo, que tivemos ensejo de realizar em 1944, 1946, 1947 e 1949. Esperamos que estudos posteriores possam completar este esboço.

Não queremos deixar de testemunhar aos Eng. Silvic.[es] Filipe Mendes Frazão, Director Geral dos Serviços Florestais e Aquícolas, e José da Cunha Monteiro, Encarregado do Laboratório de Biologia Florestal, e ao Reg. Florestal José de Mello de Figueiredo, Chefe da 11.ª Administração Florestal, os nossos melhores agradecimentos por todas as facilidades concedidas e auxílios prestados na obtenção de material para a elaboração deste trabalho.

Em seguida, vamos apresentar a lista das plantas inventariadas, ficando as espécies agrupadas por famílias e estas ordenadas segundo o sistema de Engler. Toda a nomenclatura citada foi revista de acordo com as Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica (1935), incluindo as emendas aprovadas no VII Congresso Internacional de Botânica realizado em Estocolmo em Julho de 1950, pelo que, em certos casos, é

possível encontrar-se desacordo com nomes de há muito usados na Mata do Buçaco. As descrições botânicas foram feitas a partir dos exemplares estudados.

GINKGOACEAE

1 — ***Ginkgo biloba*** L., Mant Pl. II: 313 (1771).

Árvore de pernadas patentes; folhas flabeliformes, geralmente inteiras nos raminhos curtos e bilobadas nos de prolongamento, pecioladas, grandes e caducas; sementes drupáceas, subglobosas ou ovoides, de maturação anual.

Distribuição geográfica: De há muito cultivada na China e no Japão. Alguns autores recentes consideram-na espontânea na província chinesa de *Chekiang*.

Notas: No Buçaco, não frutifica e é conhecida por « árvore dos quarenta escudos », nome este sem dúvida um aportuguesamento, sem fundamento, do nome que os franceses lhe dão (arbre aux quarente écus).

PODOCARPACEAE

2 — ***Podocarpus Mannii*** Hook. f. in J. Linn. Soc. VII: 218 (1864).

Árvore pouco elevada, de ritidoma delgado; gomos com 2,5-3 $\times$ 1,5 mm, oblongos, verdes; folhas linear-lanceoladas ou lanceoladas, flexíveis, com 4-18 $\times$ 0,4-0,9 cm; sementes piriformes atingindo 35 mm, não assentes em receptáculo carnudo e solttárias terminalmente em raminhos curtos pouco folhosos.

Distribuição geográfica: Ilha de S. Tomé.

Notas: Junto à Fonte de S. Silvestre, há um exemplar pequeno e mal desenvolvido que nunca floresceu.

3 — ***Podocarpus Totara*** D. Don in Lamb., Descript. Gen. Pinus ed. 3, II: 1 p. (1832).

Árvore elevada, de ritidoma fibroso fendido em tiras longitudinais; gomos com 1,5-2,5 mm, ovoides, violáceos; folhas linear-lanceoladas, verde-escuras, rígidas, com 0,5-2,5 $\times$ 0,15-0,4 cm, com duas faixas estomáticas largas glaucescentes na página inferior; sementes subglobosas, com 10-12 mm, assentes num bem desenvolvido receptáculo vermelho.

Distribuição geográfica: Nova Zelândia.

Notas: Existe um exemplar mal desenvolvido e não frutífero, junto à estrada, ao fundo do Vale de S. Elias.

4 — ***Podocarpus Hallii*** T. Kirk, For. Fl. New Zeal. 13, tt. IX et IX-A (1889).

Árvore elevada, de ritidoma delgado, destacando-se em pequenas e estreitas porções papiráceas, às vezes em parte papiráceo e fibroso no mesmo tronco; gomos com 1,5-2 mm, globosos, verde-azeitona; folhas linear-lanceoladas, verde-claras, rígidas, com 1-2,5 × 0,25-0,45 cm, com duas faixas estomáticas largas glaucescentes na página inferior; sementes oblongas e apiculadas, com 8-9 × 3,5 mm, assentes num receptáculo mais ou menos desenvolvido.

Distribuição geográfica: Nova Zelândia.

Notas: Vários exemplares novos foram plantados no sítio dos Aviários.

ARAUCARIACEAE

5 — ***Araucaria angustifolia*** (Bertol.) O. Ktze., Rev. Gen. Pl. III: 375 (1893).

Araucaria brasiliana A. Rich. in Dict. Class. Hist. Nat. I: 512 (1822).

Árvore de copa piramidal nos indivíduos novos e arredondada, larga, nos adultos; tronco ramificado só na parte superior nos indivíduos adultos; folhas oblongo-lanceoladas, atingindo 6 cm; flores dioicas; flores masculinas com 7-15 cm; fruto subgloboso, com 10-15 cm, de escamas ápteras.

Distribuição geográfica: Sul do Brasil.

Notas: Os exemplares do Buçaco não frutificam ou só em pouca quantidade.

6 — ***Araucaria Bidwillii*** Hook. in Lond. J. Bot. II: 503 (1843).

Árvore de copa piramidal nos indivíduos novos e paraboloide nos adultos; tronco desnudando-se inferiormente nos exemplares adultos; folhas lanceoladas, atingindo 9 cm; flores monoicas; flores masculinas com 11-20 cm; fruto globoso ou elipsoide, com 25-30 cm, de escamas aladas.

Distribuição geográfica: Austrália (Queenslândia).

Notas: Os exemplares junto ao Palácio Hotel e ao Portão do Luso frutificam, o último dando sementes férteis; o primeiro media 1,20 m de DAP em 1949.

7 — ***Agathis robusta*** (F. Muell.) F. M. Bailey, Cat. Woods Queensl. (Lond. Col. Ind. Exhib. 1886): 83 (1886).

Árvore elevada, de copa piramidal nos indivíduos novos e corimbiforme nos adultos; folhas do tipo adulto oblongo-lanceoladas, às vezes elípticas ou oblongo-ovadas, coriáceas, com 5-11 × 1,5-3,6 cm; flores masculinas com 20-50 × 5-7 mm; fruto não resinoso, turbinado ou subgloboso, com 8-10 × 7-8 cm e castanho-avermelhado na maturação, de escamas múticas.

Distribuição geográfica: Austrália (Queenslândia).

Notas: Desta espécie, observámos no Buçaco os seguintes exemplares: um, mal desenvolvido e que nunca frutificou, junto à estrada, do lado de cima da Fonte de Santa Tereza; e dois melhor desenvolvidos ao cimo do Lago da Fonte Fria, um deles partido pelo ciclone de 15 de Fevereiro de 1941, mas já com renovação de flecha, ambos habitualmente produzindo flores masculinas e um tendo frutificado em 1946 mas com sementes estéreis.

Estes exemplares são conhecidos no Buçaco pelo nome de *Dammara australis*. É de notar que a verdadeira *Dammara australis* D. Don, actualmente *Agathis australis* (D. Don) Lindl., é uma árvore da Nova Zelândia e que se distingue perfeitamente da *A. robusta* (F. Mull.) F. M. Bailey pelos seguintes caracteres: folhas linear-lanceoladas e com 4-10 × 0,6-0,8 cm nos indivídnos jovens, oblongas ou obovadas e com 2-4 × × 0,8-1,2 cm nos adultos; flores masculinas com 25-45 × 8-12 mm; fruto maduro com 6-7 × 6-7 cm, de escamas mucronadas no ápice.

PINACEAE

8 — ***Cedrus Deodara*** (D. Don) G. Don in Loud., Hort. Brit. ed. 1: 388, n.º 23637 (1830).

Árvore elevada, de pernadas patentes e lançamentos pendentes; folhas aciculares, com 2-5 cm; flores masculinas com 5-12 cm; pinha ovoide ou elipsoide, com 8-12 × 5-8 cm.

Distribuição geográfica: Noroeste dos Himalaias e Afeganistão.

Notas: No Arboreto, há um bom exemplar com 27 m de altura e DAP = 80 cm e que é o único da Mata, em que se colhe semente.

9 — ***Cedrus Libani*** A. Rich. ([1]) ssp. ***atlantica*** (Endl.) Franco, nov. comb.

C. atlantica (Endl.) Carr., Tr. Conif. ed. 1: 285 (1855).

Árvore elevada, de pernadas superiores erecto-patentes e de lançamentos rígidos: folhas aciculares, com 1-2 cm; flores masculinas com 3-5 cm; pinha subcilíndrica, com 5-8 × 3-5 cm.

Distribuição geográfica: Norte de África (cordilheira do Atlas).

Notas: No Buçaco, encontram-se bastantes exemplares, de tronco perfeitamente erecto, alcançando alturas de cerca de 25 m, que frutificam e dão semente fértil.

10 — ***Abies bracteata*** (D. Don) Poit. in Rev. Hort. ser. 2, IV: 7 (Apr. 1845).

Pinus bracteata D. Don in Lamb., Descript. Gen. Pinus ed. 3, II: 1 p. (1832) ([2]).

Pinus venusta Dougl. in Hook. Comp. Bot. Mag. II: 152 (1 Dec. 1836).

Abies venusta (Dougl.) K. Koch, Dendrol. II (2): 210 (1873).

Árvore elevada, de pernadas patentes ou as inferiores reclinadas formando copa piramidal larga na base e depois repentinamente contraída e muito afilada para cima; raminhos glabros; gomos ovoide-cónicos, afilados, grandes e não resinosos; folhas rígidas, discolores, com 25-55 × 2,5-3,5 mm, agudas ou acuminadas, mucronadas; flores masculinas amarelo-sulfúreas na antese, com 20-30 × 5-7 mm; pinha ovoide, com 7-10 × 4-6 cm, de escamas protectoras trilobadas com o lobo médio aristado longamente exserto e de escamas frutíferas transversalmente elípticas.

([1]) *Cedrus Libani* A. Rich. in Dict. Class. Hist. Nat. III: 299 (1823); *C. libanensis* Juss. ex Mirb. in Mém. Mus. Hist. Nat. (Paris) XIII: 71 (1825).

([2]) Vide Keck in Madroño VIII: 178 (1946).

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Califórnia).

Notas: Actualmente só existe um exemplar no Arboreto, com 26 m de altura e 40 cm de DAP, que dá flores masculinas mas não frutifica. Um exemplar, que houve no Vale da Ribeira ou Vale dos Castanheiros, frutificava.

11 — ***Abies concolor*** (Gord.) Hildebr. var ***Lowiana*** (Gord.) Lemm., Handb. West-Amer. Cone-Bearers ed. 3: 64 (1895).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal ampla; raminhos puberulentos; gomos globosos ou ovoides, pequenos e muito resinosos; folhas flexíveis, concolores, com 15-60 × 1,5-2,5 mm, obtusas e ligeiramente chanfradas; flores masculinas purpúreo-amareladas na antese, com 12-20 × 6-8 mm; pinha cilíndrica, com 7,5-12,5 × 3-5 cm, de escamas protectoras inclusas e de escamas frutíferas largamente flabeliformes ou transversalmente elípticas.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Oregon e Califórnia).

Notas: Há um exemplar novo, acima do lago da Fonte Fria, no talhão ao lado do começo da escadaria.

12 — ***Abies firma*** Sieb. et Zucc., Fl. Japon. II: 15, t. 107 (1842).

Árvore elevada, de pernadas patentes ou as superiores erecto-patentes formando copa piramidal ampla; raminhos pubescentes nas rugas; gomos ovoides, pequenos, não ou só ligeiramente resinosos; folhas rígidas, subdiscolores, com 15-40 × × 2-3,5 mm, obtusas e ligeiramente chanfradas (agudas e bífidas nos indivíduos jovens); flores masculinas amarelo-pálidas na antese, com 12-25 × 5-7 mm; pinha ovoide-cilíndrica, com 5-10 × 3,5-4,5 cm, de escamas protectoras exsertas, erecto-patentes e de limbo ovado-triangular-cuspidado e de escamas frutíferas transversalmente elípticas ou elíptico-rectangulares.

Distribuição geográfica: Japão.

Notas: No Arboreto, há um exemplar frutífero com 23 m de altura e 55 cm de DAP.

13 — ***Abies Nordmanniana*** (Steven) Spach, Hist. Nat. Vég. Phan. XI: 418 (1842).

Árvore elevada, de pernadas patentes ou as inferiores reclinadas nos indivíduos adultos, formando copa densa, cónica e não muito ampla; raminhos puberulentos ou puberulento--pubescentes, às vezes mesmo glabros; gomos ovoides, pequenos, não resinosos; folhas flexíveis, discolores, com 10-35 × 1,5-2 cm, obtusas ou truncadas e ligeiramente chanfradas; flores masculinas vermelhas na antese, com 12-20 × 4-6 mm; pinha cilíndrica, com 12-18 × 4-5 cm, de escamas protectoras exsertas geralmente mais ou menos reflexas e de limbo mais ou menos quadrado e cuspidado, e de escamas frutíferas largamente flabeliformes ou mesmo subreniformes.

Distribuição geográfica: Cáucaso e Ásia Menor.

Notas: No Arboreto, existem vários exemplares novos e, ao lado do comêço da Escada do Carregal, há um pequeno grupo de árvores adultas, tidas como *Abies cephalonica* Loud., que frutificam e dão semente fértil. A *Abies cephalonica* Loud., da Grécia, distingue-se da *A. Nordmanniana* (Steven) Spach pelos seguintes caracteres: raminhos glabros; gomos resinosos; folhas rígidas, agudas e mucronadas; pinhas largas de 3,5-4,5 cm; escamas protectoras de limbo suborbicular ou obcordiforme; escamas frutíferas flabeliformes.

14 — ***Abies alba*** Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 1 (1768).

A. taxifolia Du Tour in Nouv. Dict. Hist. Nat. XX: 114 (1803) nom. illegit.; Desf., Tabl. École Bot. Mus. Hist. Nat. 216 (1804) [1]; Mirb., Hist. Nat. Pl. X: 231 [1804?, 1805?] [2]; non Poir. (1805).

A. pectinata (Lam.) [DC. in] Lam. et DC., Fl. Franç. ed. 3, III: 276 (1805), non Gilib. (1792), nec Poir. (1805).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal aberta; raminhos densamente pubescentes; gomos ovoides, pequenos, não resinosos; folhas flexíveis, discolores,

(1) *Abies taxifolia* Desf. loc. cit.: novum nomen sine descriptione sed supra synonymum Pinum Piceam L. fundatum.

(2) Opus anno XIII Reipublicae gallicae in lucem editum.

com 10-30 × 1,5-2 mm, obtusas ou acutiúsculas, ligeiramente chanfradas; flores masculinas vermelhas ou um pouco violáceas na antese, com 10-20 × 5-6 mm; pinha cilíndrica, com 10-20 × × 3-4 cm, de escamas protectoras exsertas, mais ou menos patentes e de limbo espatulado, suborbicular ou subquadrado e de escamas frutíferas flabeliformes.

Distribuição geográfica: Centro e Sul da Europa.

Notas: Na Mata, encontram-se muitos exemplares adultos desta espécie. Temos a destacar os do Vale dos Abetos (parte superior do Vale de S. Elias) e os da Costa do Sol; dos primeiros, medimos um com 38 m de altura e 78 cm de DAP. Todos estes exemplares frutificam regularmente e é, nos da Costa do Sol, que se costuma colher semente.

15 — × ***Abies insignis*** Bailly in Rev. Hort. ***1890***: 230; Franco in Bol. Soc. Port. Cienc. Nat. ser. 2, II: 16 cum ics. (1949).

Árvore vigorosa, de pernadas patentes formando copa piramidal ampla e aberta; raminhos pubescentes; gomos ovoides, pequenos, mais ou menos resinosos; folhas rígidas, discolores, com 10-33 × 1,5-2,5 mm, acutiúsculas ou obtusas, inteiras; flores masculinas purpúreas ou violáceas na antese, com 15--24 × 6-7 mm; pinha cilíndrica, com 11-20 × 3,5-5 cm, de escamas protectoras ligeiramente salientes e levantadas apenas na base da pinha ou às vezes em toda a pinha, mais raramente todas inclusas, de limbo suborbicular ou subquadrado e cuspidado, e de escamas frutíferas flabeliformes.

Origem: Híbrido entre *Abies Nordmanniana* (Steven) Spach e *Abies Pinsapo* Boiss. ssp. *Pinsapo*.

Notas: À direita do começo da rua das Portas de Coimbra, há um exemplar frutífero com cerca de 37 anos, classificado como *Abies cephalonica* Loud. A *Abies cephalonica* Loud. distingue-se da *A. insignis* Bailly como segue: raminhos glabros; gomos bem resinosos; folhas agudas; flores masculinas na antese com 12-14 × 6 mm; pinha de escamas protectoras todas exsertas.

16 — ***Abies Pinsapo*** Boiss. ssp. ***Pinsapo***.

Abies Pinsapo Boiss. in Bibl. Univ. Genève nouv. sér., XIII: 402, 406 (Mart. 1838).

A. Pinsapo ssp. *eupinsapo* Maire in Jahandiez et Maire, Cat. Pl. Maroc I: 14 (1931).

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes no cimo da copa e reclinadas para baixo formando copa piramidal ampla; raminhos glabros; gomos ovoides, pequenos, resinosos; folhas rígidas, concolores, com 6-16 × 1,5-2,5 mm, agudas ou obtusas mas inteiras; flores masculinas purpúreas ou violáceo-purpúreas na antese, com 8-15 × 5-6 mm; pinha cilíndrica, com 10-16,5 × 3-4 cm, de escamas protectoras inclusas e de escamas frutíferas flabeliformes ou largamente flabeliformes.

Distribuição geográfica: Sul da Espanha.

Notas: Na Mata Moraes Soares, restam hoje alguns exemplares antigos frutíferos do grupo que ali houve e que foi destroçado pelo ciclone de 15 de Fevereiro de 1941. Algumas destas árvores eram tidas como *Abies numidica.* A verdadeira *A. numidica* Carr., da Argélia, distingue-se pelos seguintes caracteres: gomos majúsculos, não ou pouco resinosos; folhas discolores, com 15-20 mm; pinha atingindo 18 cm. Convém lembrar que o nome *A. numidica* é muitas vezes erròneamente aplicado, nos arboretos, a exemplares do híbrido × *Abies insignis* Bailly.

17 — ***Abies Pindrow*** Royle, Ill. t. 86 (1836) et pp. 350, 351 (1839).

Árvore elevada, de pernadas patentes mas reclinadas na parte inferior dos indivíduos adultos formando copa densa, estreitamente piramidal; raminhos glabros; gomos ovoide-obtusos ou globosos, resinosos; folhas flexíveis, subdiscolores, com 30-80 × 1,5-2 mm, bífidas; flores masculinas amarelas na antese, com 12-20 × 5-7,5 mm; pinha cilíndrica, com 10-18 × 5-6,5 cm, de escamas protectoras inclusas e de escamas frutíferas flabeliformes.

Distribuição geográfica: Montanhas do Himalaia (parte ocidental).

Notas: No Buçaco, existem exemplares novos, que ainda não floresceram, uns do lado da Avenida dos Cedros, entre as Capelas de Santa Maria Madalena e de S. Pedro, e outros no talhão acima do lago da Fonte Fria.

18 — ***Pseudotsuga Menziesii*** (Mirb.) Franco var. ***Menziesii.***

Abies taxifolia [Lamb.] Poir. in Lam. Encycl. Méth. Bot. VI: 523 (1805) ([1]); non Du Tour (1803) nec Desf. (1804).

Abies Menziesii Mirb. in Mém. Mus. Hist. Nat. (Paris) XIII: 63, 70 (1825).

Pseudotsuga Douglasii (Lindl.) Carr., Tr. Conif. ed. 2: 256 (1867).

Pseudotsuga Menziesii (Mirb.) Franco, De Conif. duar. nom. 4 (Maio 1950) et in Bol. Soc. Brot. ser. 2, XXIV: 74 (Jul. 1950).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal ampla; gomos ovoide-cónicos, não resinosos; folhas flexíveis, discolores, com 20-35×1,5-2 mm, obtusas; flores masculinas alaranjadas; pinha ovoide-oblonga, com 7-10×2-3,5 cm, de escamas protectoras exsertas, trilobadas e com o lobo médio acicular e maior.

([1]) O vol. VI da *Encyclopédie Méthodique (Botanique)*, da autoria de Poiret, tem no frontispício a data: «An XII — 1804». As datas correctas dos vols. I a V e suppl. II a V são dadas em *Journ. Bot. Brit & For.* XLIV: 319 (1906) e por Rothmaler *in Chron. Bot.* V: 438-440 (1939); para correcção das datas de publicação dos restantes volumes, ainda não foram obtidos elementos. Todavia, quanto ao vol. VI, encontrámos vários dados que nos parecem indicar que este volume não fora publicado antes de 1805. São eles:

a) Citações bibliográficas exactas, feitas por Poiret a págs. 459, 460, 463, 543, 583, 584 e 587, do vol. I de Vahl, *Enumeratio Plantarum*, publicado em fins de 1804 (possìvelmente Dezembro); é de notar que, em páginas anteriores, Poiret não se pudera referir a este volume de Vahl, porque nenhum dos géneros nelas mencionados (excepto *Ravenala*) foi citado por Vahl.

b) Citações bibliográficas exactas, feitas por Poiret a págs. 705, 709, 714, 720 e 726, do vol. I de Persoon, *Synopsis Plantarum*, publicado em 1805 (depois de Março).

c) Todos os novos nomes ou novas combinações, estabelecidos por Persoon (1805) são mencionados por Poiret *op. cit.*, mas Persoon não refere nenhum dos novos nomes ou novas combinações criados por Poiret, à excepção do seguinte sinónimo de *Quirivela frutescens* (L.) Pers.: «*Quirivelia zeylanica*, ..Poir. in Enc. bot. vol. 6 (ined.) p. 24». Aqui, Persoon dá a a obra de Poiret por inédita e cita pág. 24, que, no volume impresso, é 42.

Do exposto e enquanto outra prova em contrário não fôr estabelecida, a data de publicação do vol. VI da *Encycl. Méth. Bot.* deve ser considerada como **1805.**

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental.

Notas: Existem vários exemplares adultos na Costa do Sol (altura cerca de 27 m), no Pátio dos Leões e no Arboreto, todos frutíferos.

19 — ***Tsuga canadensis*** (L.) Carr., Tr. Conif. ed. 1: 189 (1855).

Árvore elevada, de tronco frequentemente dividido e de pernadas patentes formando copa piramidal ampla; gomos pequenos, não resinosos; folhas flexíveis, curtamente pecioladas, discolores, com 8-18×1,5 mm, obtusas ou acutiúsculas, denticuladas; flores masculinas amarelas; pinha ovoide, com 1,5-2×1 cm, de escamas protectoras inclusas.

Distribuição geográfica: América do Norte (Canadá e leste dos Estados Unidos).

Notas: Dois exemplares adultos no Arboreto, ambos frutíferos e produtores de semente fértil, o maior com 18 m de altura e 40 cm de DAP.

20 — ***Picea Abies*** (L.) Karst., Deutsche Fl. Pharm.-med. Bot. 324 (1881).

Picea rubra A. Dietr., Fl. Geg. um Berlin II: 795 (1824).

Picea excelsa [Lam.] Link in Linnaea XV: 517 (1841).

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes formando copa piramidal ampla e aberta; gomos não resinosos; raminhos avermelhados ou amarelados, pubescentes ou glabros; folhas rígidas, de secção tetragonal, concolores, com 10-25×1-2 mm; flores masculinas vermelhas, com 2-3 cm; pinha cilíndrica, com 10-18×3-4 cm, de escamas frutíferas com a margem apical denticulada.

Distribuição geográfica: Centro e Norte da Europa.

Notas: À entrada da Fonte Fria, está um exemplar antigo não frutífero com 24 m de altura e no Arboreto existem vários que frutificam.

21 — ***Picea orientalis*** (L.) Link in Linnaea XX: 294 (1847).

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes formando copa piramidal densa; gomos não resinosos; raminhos castanho--claros, pubescentes; folhas rígidas, de secção tetragonal, conco-

lores, com 4-10 × 1,5 mm; flores masculinas vermelhas; pinha oblonga, com 5-10 × 1,5-2,5 cm, de escamas frutíferas inteiras.

Distribuição geográfica: Cáucaso e Ásia Menor.

Notas: Existem exemplares adultos não frutíferos na Cova da Raposa e um grande no Arboreto, frutífero e com 22 m de altura e 53 cm de DAP. Os exemplares desta espécie são denominados *Picea nigra* na Mata do Buçaco (assim como também foi o do Talhão dos Cedros no Parque da Pena, Sintra), binome que nunca foi atribuido a esta espécie. A verdadeira *Picea nigra* (Ait.) Link, cujo nome correcto é *Picea mariana* (Mill.) B. S. P., é originária da América do Norte e distingue-se perfeitamente da *P. orientalis* (L.) Link pelos seguintes caracteres: árvore pouco elevada, de pernadas frequentemente pendentes; folhas com 6-18 mm; pinha ovoide, com 2-3,5 cm, de escamas frutíferas miùdamente denticuladas.

22 — ***Picea Smithiana*** (Wall.) Boiss., Fl. Orient. V: 700 (1884).

Picea Morinda Link in Linnaea XV: 522 (1841).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal frouxa; gomos resinosos; raminhos cinzento-amarelado-claros, glabros; folhas flexíveis, de secção tetragonal, concolores, com 30-50 × 1 mm; flores masculinas amareladas; pinha cilíndrica, com 10-15 × 4-5 cm, de escamas frutíferas inteiras.

Distribuição geográfica: Montanhas do Himalaia.

Notas: Junto à Fonte de Santa Tereza, estão uns exemplares que frutificam pouco, mas com sementes férteis; no jardim atrás do Palácio Hotel, está um exemplar adulto que é o mais frutífero de todos da Mata; acima da Fonte Fria, existe um exemplar frutífero.

23 — ***Picea sitchensis*** (Bong.) Carr., Tr. Conif. ed. 1: 260 (1855).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal ampla e frouxa; gomos não resinosos; raminhos amarelo-acastanhados, glabros; folhas rígidas, laminares, discolores, com 10-25 × 1-1,5 mm; flores masculinas vermelhas, com 25-30 mm; pinha oblonga, com 6-10 × 1,5-3 cm, de escamas frutíferas denticuladas.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (do Alasca à Califórnia).

Notas: Existe, no Buçaco, junto ao Tanque dos Viveiros, um único exemplar antigo, em mau estado de vegetação, não frutífero e com 20 m de altura e 45 cm de DAP.

24 — ***Larix decidua*** Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 1 (1768).
L. europaea [DC. in] Lam. et DC., Fl. Franç. ed. 3, III: 277 (1805).

Árvore elevada, de pernadas ascendentes formando copa piramidal frouxa; raminhos glabros, os compridos amarelados e os curtos castanho-escuros; folhas caducas, moles, verde-claras mas tornando-se amareladas no Outouno, com 15-30 mm; flores masculinas com 5-10 mm; pinhas ovoides, com 20-40 × 15-25 mm, de escamas protectoras às vezes exsertas na base da pinha.

Distribuição geográfica: Centro e Norte da Europa.

Notas: Vários exemplares, frutíferos, o maior dos quais está no fundo do Vale dos Abetos.

25 — ***Pinus Strobus*** L, Sp. Pl. ed. 1: 1001 (1753).

Árvore elevada, de ritidoma cinzento e liso, acastanhado e um tanto gretado na base do tronco; folhas aciculares flexíveis, fasciculadas por 5, com 5-12 cm; pinha cilíndrica, com 8-20 × 3-4 cm, de pedúnculo com 1-2,5 cm e de escamas frutíferas brandas com uma curta bossa apical.

Distribuição geográfica: América do Norte oriental.

Notas: Ao cimo da Costa do Sol, perto do muro, existem vários exemplares frutíferos, o maior com 12 m de altura e 25 cm de DAP.

26 — ***Pinus canariensis*** Spreng., Syst. Veget. III: 887 (1826).

Árvore elevada, de ritidoma castanho-avermelhado, espesso e dividido em placas irregulares: raminhos uninodais; folhas aciculares flexíveis, fasciculadas por 3, com 15-33 cm; pinha ovoide-cónica, tardiamente deiscente, com 10-20 × 4-6 cm, de escamas frutíferas lenhosas com bossa dorsal pouco ou bastante desenvolvida; asa concrescente com o tegumento da semente.

Distribuição geográfica: Arquipélago das Canárias.

Notas: Há um exemplar antigo, não frutífero, à margem

da rua central do Vale dos Abetos e outro, que frutifica, no Arboreto.

27 — ***Pinus Pinaster*** [Soland. in] Ait., Hort. Kew. ed. 1, III: 367 (1789).

? *Pinus maritima* Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 7 (1768) nom. dub.; Du Roi, Obs. Bot. 45 (1771) et Harb. Baum. II: 42 (1772).

Pinus syrtica Thore, Prom. Gasc. 161 (1810).

Árvore pouco elevada, de ritidomo liso e cinzento nos indivíduos jovens, em breve anegrado, espesso e dividido em placas escamosas, nos indivíduos adultos com as escamas externas acinzentadas e as internas vermelho-arroxeadas; raminhos geralmente uninodais; folhas aciculares rígidas, fasciculadas por 2, com 10-20 cm; pinha ovoide-cónica, frequentemente indeiscente por alguns anos, com 12-20 × 5-7 cm, de escamas frutíferas lenhosas com bossa dorsal geralmente desenvolvida; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: Região Mediterrânea.

Notas: Encontram-se no Buçaco muitos exemplares de diversas idades, os adultos frutíferos e produzindo semente fértil.

Rothmaler, *in* Bol. Soc. Brot. ser. 2, XV: 137 (1941), indica que, em Portugal, sob o nome de *pinheiro bravo*, existem duas espécies: *P. Pinaster* e *P. syrtica*. No entanto, os caracteres distintivos, apresentados por aquele autor, não têm qualquer valor específico e, por outro lado, nunca conseguimos encontrar em nenhum ponto de Portugal pinheiros bravos cujas características nos fizessem supôr a existência de mais de uma espécie. Quanto ao nome *Pinus syrtica* Thore, observámos em 1949, no Herbário do Museu de História Natural de Londres, o exemplar tipo e nele não encontrámos nenhuma distinção em relação à *Pinus Pinaster* Ait.

Se bem que o nome *Pinus maritima* Du Roi corresponda, segundo a descrição original, ao pinheiro bravo, o nome *Pinus maritima* Miller, que lhe é anterior, está baseado numa descrição muito pouco explícita e, como não existe o exemplar tipo de Miller, conforme verificámos no citado Herbário londrino, o nome *Pinus maritima* jàmais poderá ser aplicado.

28 — ***Pinus sylvestris*** L., Sp. Pl. ed. 1: 1000 (1753).

Árvore de ritidoma delgado, vermelho-oca e destacando-se em escamas papiráceas nos indivíduos novos e na parte superior do tronco nos adultos, espesso e dividido em placas escamosas (com as escamas externas acinzentadas e as internas avermelhadas) na parte inferior do tronco nas árvores adultas; raminhos uninodais; folhas aciculares subrígidas, fasciculadas por 2, com 3-8 cm; pinha ovoide-cónica, caduca, com 3-8 × × 2-3,5 cm, de escamas frutíferas lenhosas geralmente sem bossa dorsal; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: Europa e Ásia boreal e ocidental.

Notas: Ao fundo do Vale dos Abetos, há um exemplar frutífero com cerca de 30 m de altura, mas que não dá semente fértil.

29 — ***Pinus Clusiana*** Clem. ex Ar. var. ***corsicana*** (Loud.) Franco in An. Inst. Sup. Agron. XVI: 131 [Mart. 1950].
Pinus Laricio Poir. in Lam., Encycl. Méth. Bot. V: 339 (1804); non Santi (1795).

Árvore elevada, de ritidoma pouco espesso, dividido em placas escamosas, sendo as escamas externas prateadas e as internas acastanhadas; raminhos uninodais; folhas aciculares subrígidas, fasciculadas por 2, com 8-15 cm; pinha ovoide-cónica, caduca, com 5-7,5 cm, de escamas frutíferas lenhosas com escudo achatado e sem bossa dorsal; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: Córsega.

Notas: Quase ao cimo da rua central do Vale de Abetos, há um exemplar com 25-30 m de altura e 66 cm de DAP e, no cimo da Costa do Sol, estão vários exemplares, todos frutíferos.

30 — ***Pinus Clusiana*** var. ***cebennensis*** (Godr.) HV. in Ber. Schweiz. Bot. Gesel. LVII: 152 (1947).

Distingue-se do n.º 29 por: porte menos elevado, folhas ténues com 6-12 cm e pinha com 3,5-5 cm.

Distribuição geográfica: França mediterrânea e Nordeste da Espanha.

Notas: Existe um único exemplar na Mata do Buçaco, na Curva da Raposa, frutífero e com cerca de 22 m de altura e 65 cm de DAP.

31 — ***Pinus Pinea*** L., Sp. Pl. ed. 1: 1000 (1753).

Árvore de copa ampla arredondada e ritidoma um tanto espesso, dividido em placas escamosas largas, de escamas externas acinzentadas e internas alaranjadas; raminhos uninodais; folhas aciculares subrígidas, fasciculadas por 2, com 10-15 cm; pinha ovoide-globosa, de maturação trienal, de escamas frutíferas lenhosas com escudo convexo e sem bossa dorsal; semente grossa, com asa rudimentar e muito caduca.

Distribuição geográfica: Região Mediterrânea.

Notas: Por trás das Cocheiras, estão vários exemplares adultos frutíferos, produzindo semente fértil, que dão ideia, pela sua disposição, de serem relíquias dum povoamento destroçado.

32 — ***Pinus Montezumae*** D. Don. var. ***Lindleyi*** Loud., Encycl. Trees: 1004, f. 1882 (1842).

Árvore de ritidoma espêsso, dividido em placas escamosas irregulares, vermelho-acastanhadas; raminhos uninodais; folhas aciculares flexíveis, pendentes, fasciculadas por 5, com 15-25 cm; pinha subcilíndrica ou ovoide-cónica, com 10-15 cm, de escamas frutíferas lenhosas com escudo castanho-claro (na maturação) e não ou pouco proeminente; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: México.

Notas: Junto à estrada para Vizeu, por cima da Fonte de Santa Tereza, houve um exemplar antigo que foi derrubado pelo vento em 1948.

33 — ***Pinus patula*** Schlecht. et Cham. in Linnaea VI: 354 (1831).

Árvore de ritidoma delgado, avermelhado e destacando-se em escamas papiráceas nos indivíduos novos e na parte superior do tronco nos adultos, espêsso e dividido em placas escamosas (com as escamas externas acinzentadas e as internas avermelhadas) na parte inferior do tronco nas árvores adultas; raminhos multinodais, pruinosos; folhas aciculares flexíveis, pendendo lateralmente dos ramos, fasciculadas por 3 (às vezes 4-5), com 15-30 cm; pinha ovoide-cónica, indeiscente por muitos

anos, com 6-11 cm, de escamas frutíferas lenhosas sem bossa dorsal e de escudo mútico; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: México.

Notas: Próximo à casa do guarda das Portas da Rainha, há vários exemplares antigos frutíferos, com 20-22 m de altura e um dos maiores com 90 cm de DAP; abaixo do Pátio dos Leões, existem outros exemplares semelhantes.

34 — ***Pinus radiata*** D. Don in Trans. Linn. Soc. Lond. XVII: 442 (1836).

Pinus insignis Dougl. ex Loud., Arbor. et Fruticet. Brit. IV: 2265 (1838).

Árvore elevada, de ritidoma cinzento e liso nos indivíduos jovens, espesso, anegrado e dividido em estreitas placas escamosas nos adultos; raminhos multinodais; folhas aciculares flexíveis, fasciculadas por 3 ou 2, com 10-15 cm; pinha ovoide-cónica, bastante assimétrica na base, indeiscente por vários anos, com 8-15 × 6-8 cm, de escamas frutíferas lenhosas, as do lado exterior da pinha com o escudo bastante convexo; asa circundando a semente em forma de tenaz.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Península de Monte Rei e Baía de S. Simeão).

Notas: Vários exemplares frutíferos na Costa do Sol, onde há reprodução subespontânea.

TAXODIACEAE

35 — ***Cunninghamia lanceolata*** (Lamb.) Hook. in Bot. Mag. LIV: t. 2743 (1827).

C. sinensis R. Br. ex A. Rich. in L. C. Rich., De Conif. et Cyc. 80, t. 18 f. 3 (1826).

Árvore elevada, de pernadas patentes ou ascendentes formando copa piramidal pouco ampla; folhas linear-lanceoladas, rígidas, acuminado-mucronadas, com 15-60 × 3-5 mm; flores masculinas fasciculadas na extremidade dos raminhos; estróbilo globoso-ovoide, com 25-50 mm, de escamas ovado-acuminadas, coriáceas, serrilhadas e mucronadas.

Distribuição geográfica: China meridional e ocidental.

Notas: Um exemplar frutífero, com 5 m de altura e 10 cm de DAP em 1949, plantado por trás dum antigo castanheiro da Índia, à esquerda do começo da escadaria da Fonte Fria.

36 — ***Sequoia sempervirens*** (D. Don) Endl., Syn. Conif. 198 (1847).

Árvore muito elevada, de pernadas patentes formando copa piramidal ampla; folhas biformes, as dos ramos do cimo da copa e às vezes nos de prolongamento inferiores pequenas e mais ou menos imbricadas, as dos restantes ramos pectinadas, lineares, mucronadas e com 10-25 × 2-3 mm; flores masculinas solitárias ou geminadas, terminais em raminhos curtos; estróbilo subgloboso, com 15-25 × 11-20 mm, de escamas lenhosas, subpeltadas.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (desde o sul do Oregon até à Califórnia).

Notas: Vários exemplares adultos frutíferos, dando semente fértil em maior ou menor quantidade segundo os anos, em vários pontos da Mata; no Vale dos Abetos, há um exemplar com 37-38 m de altura.

37 — ***Cryptomeria japonica*** (L. f.) D. Don var. ***sinensis*** Sieb. in Sieb. et Zucc., Fl Japon. II: 52 [1844].

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes formando copa piramidal aberta; folhas aciculares, subrígidas, ascendentes, com 15-25 × 1-1,5 mm; flores masculinas com 4-10 mm, grupadas em curtas espigas subterminais; estróbilo globoso, com 20-30 mm, de escamas subpeltadas lenhosas, espessas, mucronadas a meio do dorso e com 3-5 mucrões na margem superior.

Distribuição geográfica: China meridional.

Notas: Para além da Fonte de Santa Tereza, há um exemplar frutífero, mas que dá pouca semente fértil; ao fundo do Vale de S. Elias, junto à estrada, está um exemplar com 25-30 m de altura e 70 cm de DAP, também frutífero.

38 — ***Taxodium distichum*** (L.) L. C. Rich. in Ann. Mus. Hist. Nat. (Paris) XVI: 298 (1810).

Árvore elevada, de copa por fim arredondada; raminhos laterais caducando no Outono; folhas nos raminhos de prolon-

gamento imbricadas e nos laterais pectinadas, lineares, moles, verde-claras mas avermelhando antes da queda dos raminhos, com 10-20×1-1,5 mm; flores masculinas reunidas em amplas panículas; estróbilo subgloboso, com 20-35 mm, de escamas lenhosas muito irregulares, em breve múticas.

Distribuição geográfica: Sudoeste da América do Norte.

Notas: Existem vários exemplares novos ao fundo do lago grande da Fonte Fria.

CUPRESSACEAE

39 — ***Cupressus Goveniana*** Gord. in Journ. Hort Soc. Lond. IV: 295 cum ic. (1849).

Árvore mediana, de pernadas patentes e de lançamentos não pendentes; ramos tetrásticos (raramente dísticos); folhas escamiformes obtusiúsculas e mucronadas, não glandulosas, verde-vivo; flores masculinas com 6-12 escamas anteríferas; gálbulas frequentemente aglomeradas, em novas acinzentadas e na maturação castanhas, com 15-25 mm; sementes escuras.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Califórnia).

Notas: Na Cova de S. Pedro, encontram-se vários exemplares antigos frutíferos, que dão semente fértil.

40 — ***Cupressus lusitanica*** Mill. ssp. ***lusitanica*** var. ***lusitanica*** for. ***lusitanica***.

C. lusitanica Mill., Gard. Dict. ed. 8: n.º 3 (1768).

C. lusitanica ssp. *genuina* Franco in Agros XXVIII (1-2): 23 (1945) var. *typica* Franco loc. cit. for. *vulgaris* Franco loc. cit.

Árvore elevada, de pernadas patentes e de lançamentos recurvados nos exemplares novos; ramos tetrásticos; folhas escamiformes agudas, às vezes obtusiúsculas em ramos curtos, com ou sem glândula, de começo glaucas ou glaucescentes e mais tarde geralmente passando a verde; flores masculinas com 10-16 escamas anteríferas; gálbulas solitárias, glaucas em novas e castanhas na maturação, com 8-15 mm.

Distribuição geográfica: Introduzida em Portugal (Buçaco)

há mais de 300 anos. Originária, muito provàvelmente, da América Central.

De todos os exemplares de *Cupressus* spp. existentes nos herbários de Kew e do Museu de História Natural de Londres, não temos qualquer dúvida em afirmar que são os da América Central os que mais se aproximam da *Cupressus lusitanica* Mill.

Notas: Foi da Mata do Buçaco que se tornou conhecida esta espécie e daqui as designações vernáculas de «cedro do Buçaco» e «cipreste do Buçaco». Na Mata, encontram-se muitos exemplares, de diferentes idades, sendo dos mais velhos o junto à Capela de S. José, com 23 m de altura e 163 cm de DAP.

41 — ***Cupressus lusitanica*** ssp. ***lusitanica*** var. ***lusitanica*** for. ***tristis*** (Endl.) Franco.

C. lusitanica ssp. *genuina* var. *typica* for. *tristis* (Endl.) Franco in Agros XXVIII (1-2): 23 (1945).

Distingue-se do n.º 40 por: pernadas delgadas, patentes ou decumbentes, com ramos filiformes pouco ramificados e longamente pendentes.

Origem: Os exemplares desta *forma* aparecem raramente em sementeiras do cipreste ou cedro do Buçaco (n.º 40) frutificam mas os seus caracteres não se mantêm por via seminal.

Notas: Junto ao caminho que vai do Carregal a S. Miguel, está um exemplar frutífero com 16 a 18 anos.

42 — ***Cupressus lusitanica*** ssp. ***Benthamii*** (Endl.) Franco in Agros XXVIII (1-2): 24 (1945) var. ***communis*** Franco loc. cit.

Distingue-se do n.º 40 por: ramos dísticos, mais ou menos comprimidos e folhas escamiformes verdes.

Notas: A *Cupressus lusitanica* ssp. *Benthamii* (Endl.) Franco é originária do México, enquanto que o exemplar observado foi obtido, segundo nos comunicou o Reg. Flor. José de Mello de Figueiredo, numa sementeira de sementes colhidas nos exemplares antigos de *Cupressus lusitanica* Mill. do Buçaco. Como não conseguimos distingui-lo dos mexicanos, decidimos incluí-lo nesta subespécie, o que nos parece ser mais uma prova para aproximar a *C. lusitanica* Mill. da *C. Benthamii* Endl.

O exemplar estudado foi plantado depois de 1870, frutifica e está em frente da garage do Palácio Hotel. No herbário da Cadeira de Botânica do Instituto Superior de Agronomia (LISI), está conservado um exemplar que colhemos em Abril de 1949.

43 — ***Chamaecyparis Lawsoniana*** (A. Murr.) Parl. in Ann. Mus. Stor. Nat. Fir. I: 181 (1864).

Árvore elevada, de pernadas patentes formando copa cónica, densa e estreita; ramos dísticos; folhas escamiformes, aplicadas, mais ou menos agudas; flores masculinas violáceo-purpúreas: gálbula pruinosa em nova, com 8-10 mm e com 6-8 escamas subplanas, as férteis com 2-5 sementes.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Oregon e Califórnia).

Notas: No Vale dos Abetos, existem exemplares antigos frutíferos, que dão semente fértil.

44 — ***Chamaecyparis pisifera*** (Sieb. et Zucc.) Endl. for. ***plumosa*** (Carr.) Beissn., Syst. Eintheil. Conif. 13 (1887).

Arbusto ou pequena árvore, de pernadas patente-ascendentes formando copa piramidal geralmente estreita; ramos aglomerados na extremidade das ramificações principais, por sua vez com raminhos tortuosos e dísticos; folhas linear-assoveladas, livres no ápice; flores masculinas amarelas; gálbula verde em nova, com 6-9 mm e com 8-12 escamas deprimidas a meio do escudo, as férteis com 1-2 sementes.

Origem: Forma hortícola de há muito conhecida no Japão.

Notas: No sítio dos Aviários, forem plantados, há poucos anos, alguns exemplares.

45 — ***Libocedrus decurrens*** Torr., Smiths. Inst. Contrib. Knowl. V (1): 7, t. 3 (Apr. 1853).

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes formando cópa cónica densa; ramos comprimidos, dísticos; folhas escamiformes, subquadriverticiladas, aplicadas excepto no ápice, cuspidadas, verde-escuras nas duas faces do ramo; flores masculinas amarelas; falsa-gálbula oblonga, com 20-25 × 10-12 mm e com 6 escamas, sendo apenas férteis as duas médias.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (Oregon e Califórnia).

Notas: Junto às Estufas, existe um exemplar antigo frutífero, que dá semente fértil. Este exemplar é conhecido no Buçaco sob o nome de *Libocedrus chilensis*. A verdadeira *L. chilensis* (D. Don) Endl., originária dos Andes do Sul do Chile, distingue-se da *L. decurrens* Torr. pelos seguintes caracteres: folhas faciais muito menores do que as laterais, estas com uma faixa estomática branca na face inferior dos ramos; falsa-gálbula ovoide-oblonga, com 4 escamas. É curioso notar que, no Parque da Pena, em Sintra, existiram uns exemplares de *L. decurrens* Torr., situados na rua entre a Abegoaria e a Tapadinha e na rua entre o Jardim Inglês e os Lagos, que foram derrubados pelo ciclone de 15 de Fevereiro de 1941 e que também eram tidos como *Libocedrus chilensis*.

46 — ***Thujopsis dolabrata*** (L. f.) Sieb. et Zucc. var. ***dolabrata*** for. ***variegata*** [Fortune] Beissn., Syst. Eintheil. Conif. 9 (1887).

Thujopsis dolabrata var. *variegata* [Fortune] ex Gard. Chron. ***1861***: 735; [Otto] in Hamburg. Gart. — & Blumenzeit. XVII: 465 (1861); Fortune ex Gord., Pinet. Suppl. 100 (1862).

Árvore pouco elevada, de pernadas patente-ascendentes formando copa piramidal ampla; ramos comprimidos, largos e dísticos; folhas escamiformes, grandes, verde-escuras ou em parte brancas na face superior dos ramos e com faixas estomáticas largas brancas em depressão na inferior, biformes: as faciais espatuladas e as laterais naviculares incurvadas; flores masculinas violáceas; falsa-gálbula globoso-ovoide, com 1-2 cm, de escamas espessas no ápice.

Distribuição geográfica: Cultivada no Japão.

Notas: No sítio dos Aviários, foram plantados, há poucos anos, alguns exemplares novos.

47 — ***Thuja plicata*** D. Don in Lamb., Descript. Gen. Pinus ed. 1, II: 19 (1824).

Thuja gigantea Nutt. in Journ. Acad. Philadel. VII: 52 (1834).

Árvore elevada, de pernadas patente-ascendentes (as inferiores frequentemente enraizando por contacto com o solo)

formando copa piramidal ampla; ramos comprimidos, não muito largos, dísticos; folhas escamiformes, verdes nas duas faces do ramo, sem glândula dorsal evidente, as dos ramos de prolongamento acuminadas e paralelas ao eixo; flores masculinas purpúreas; falsa-gálbula oblonga, com 6-10 × 3-5 mm, de escamas coriáceas.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (da Colômbia Britânica à Califórnia).

Notas: No Arboreto, existem exemplares frutíferos.

48 — ***Tetraclinis articulata*** (Vahl) Mast. in Journ. Roy. Hort. Soc. (London) XIV: 250 (1892).

Frenela Fontanesii Mirb. in Mém. Mus. Hist. Nat. (Paris) XIII: 28 (1825) nom. illegit.

Callitris quadrivalvis Vent. ex A. Rich. in L. C. Rich., Comm. Bot. Conif. Cycad. 46, t. 8 (1826).

Tetraclinis aphylla [Jusl.] Rothm. in Fedde Repert. Sp. Nov. L: 72 (1941) quoad syn. Callitr. quadrivalv. L. C. Rich., excl. syn. Thuja aphylla Jusl.

Árvore pouco elevada, de pernadas patentes formando copa irregular; ramos delgados, comprimidos, dísticos; folhas escamiformes, aplicadas ao ramo, quadriverticiladas; flores masculinas amareladas; falsa-gálbula cúbico-ovoide, com 8-13 mm, glauca em nova e castanho-clara na maturação, composta de 4 escamas ovadas subiguais, 2 maiores côncavas no dorso e 2 menores sulcadas no dorso.

Distribuição geográfica: Norte de África e sul de Espanha.

Notas: Atrás das Estufas, existem vários exemplares frutíferos, dando semente fértil, com 7 a 8 m de altura e 25 cm de DAP.

Rothmaler (loc. cit.) considera a *Thuja aphylla* Jusl. como sinónimo de *Callitris quadrivalvis* L. C. Rich. e estabelece a nova combinação *Tetraclinis aphylla* (Jusl.) Rothm. Este procedimento de Rothmaler suscitou-nos dúvidas, porquanto, baseada sobre a mesma *Thuja aphylla* Jusl., já conhecíamos o nome *Tamarix aphylla* (L.) Karst., sinónimo de *Tamarix orientalis* Forsk. e, portanto, referente a uma espécie muito diferente. Convém aqui referir que Linné, e não Juslenius, deve ser citado como o autor de *Thuja aphylla*. Esta tão diversa inter-

pretação do nome *Thuja aphylla* L. Cent. I. Pl.: 32 (1755) levou-nos a consultar o nosso amigo Mr. J. E. DANDY, do Museu Britânico e distinto perito em assuntos nomenclaturais. Segundo DANDY, a descrição sob o nome *Thuja aphylla* L. foi inteiramente baseada sobre um exemplar guardado no herbário de LINNÉ, com excepção do fruto, que LINNÉ não viu. A referência «strobilis quadrivalvis» na descrição lineana foi extraída por LINNÉ da descrição anterior de SHAW, Afric. n.° 188, cum ic. (1738). A descrição de SHAW corresponde, com efeito, à *Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast. e foi por engano que LINNÉ a deu como sinónimo da sua *Thuja aphylla*. Destas considerações, vê-se claramente que o nome *Thuja aphylla* L. baseia-se em caracteres de duas distintas plantas e, por isso, torna-se um autêntico exemplo dum *nomen confusum*, a rejeitar segundo o art. 64 das Regras Internacionais de Nomenclatura Botânica.

49 — ***Callitris rhomboidea*** R. Br. ex A. Rich. in L. C. Rich., Comm. Bot. Conif. Cycad. 47, t. 8 f. 1 (1826).

Pequena árvore, de pernadas patente-ascendentes formando copa cónica; ramos delgados, triquetro-roliços, hexásticos ou irregularmente dispostos; folhas escamiformes, ternadas, alongadas e agudas; flores masculinas amarelas; falsa-gálbula subglobosa, com 12-15 mm, composta por 6 escamas lenhosas, alternadamente 3 maiores e 3 menores.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Um exemplar frutífero perto do caminho que vai do Carregal a S. Miguel.

50 — ***Juniperus virginiana*** L., Sp. Pl. ed. 1: 1039 (1753).

Árvore mediana, de pernadas patentes formando copa piramidal; ramos delgados, roliços, irregularmente dispostos; folhas opostas ou ternadas, biformes: 1) escamiformes, agudas e mais ou menos aplicadas, e 2) aciculares, patentes, agudas e discolores; flores masculinas amarelas; gálbula baciforme globosa, pruinosa mas tornando-se azul-escura na maturação, com 6-8 mm e geralmente mono-dispérmica.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Exemplares antigos não frutíferos no Vale dos Abetos.

PALMAE

51 — ***Erythea armata*** (S. Wats.) S. Wats., Bot. Calif. II: 212 (1880).

Palmeira pouco elevada, de espique robusto, revestido pelas bainhas marcescentes totalmente ou apenas na parte superior; folhas flabeliformes, pecioladas, glaucas, grandes; espadices muito maiores do que as folhas, patente-recurvados, com várias espatas; fruto subgloboso, com 18-25 × 16-22 mm, verde-brilhante em novo, depois amarelo e negro-brilhante na maturação.

Distribuição geográfica: Noroeste do México.

Notas: Um exemplar no jardim por trás do Palácio Hotel, que não tem florescido.

CASUARINACEAE

52 — ***Casuarina Cunninghamiana*** Miq., Rev. Crit. Casuar. 56, t. 6 A (1848).

Árvore elevada, de pernadas ascendentes ou patentes formando copa piramidal; raminhos delgados; folhas escamiformes, glaucescentes, 8-10 por verticilo, agudas e aplicadas; amentilhos masculinos atingindo 25 mm; infrutescências numerosas, oblongo-cilíndricas, com 6-14 × 6-10 mm.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: No jardim junto ao Palácio Hotel, há um exemplar adulto frutífero, que dá semente fértil.

SALICACEAE

53 — ***Populus alba*** L. var. ***alba.***

Populus alba L., Sp. Pl. ed. 1: 1034 (1753).

P. alba var. *nivea* Ait., Hort. Kew. ed. 1, III: 405 (1789).

Árvore pouco elevada, de pernadas patentes e ritidoma liso e todo branco nos indivíduos jovens, tornando-se espêsso, fendido e anegrado na parte inferior do tronco nos adultos; raminhos branco-tomentosos; folhas dos ramos compridos ovadas 3-5-lobadas, verde-escuras na página superior e branco-tomentosas na inferior, as dos ramos curtos menores, ovadas

ou elíptico-oblongas, sinuado-dentadas e geralmente acinzentadas na página inferior; amentilhos masculinos com 8-10 cm, de flores com 6-10 estames; amentilhos femininos com 5 cm, de flores com 4 estigmas.

Distribuição geográfica: Europa central e meridional, Sibéria ocidental e Ásia central.

Notas: Vários exemplares perto do lago da Fonte Fria.

54 — ***Populus alba*** for. ***pyramidalis*** (Bge.) Dipp., Handb. Laubh. II: 191 (1892).

P. alba var. *Bolleana* Lauche ex Huttig in Deut. Gart. 500 (1878).

Distingue-se do n.º 53 por: pernadas fastigiadas e folhas dos ramos curtos orbiculares, grosseiramente dentadas, verdes e glabrescentes na página inferior.

Origem: Introduzida do Turquestão na cultura europeia.

Notas: Vários exemplares não frutíferos, perto da Fonte de S. Elias.

JUGLANDACEAE

55 — ***Juglans nigra*** L., Sp. Pl. ed. 1: 997 (1753).

Árvore elevada, de ritidoma cinzento-escuro e profundamente fendido; raminhos pubescentes; folhas com 15-23 folíolos ovado-oblongos ou ovado-lanceolados, irregularmente serrados; amentilhos masculinos com 5-12 cm; fruto globoso ou subpiriforme, com 35-50 mm.

Distribuiçãa geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Um exemplar frutífero, que dá semente fértil, à entrada das Estufas.

CORYLACEAE

56 — ***Carpinus Betulus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 998 (1753).

Árvore mediana, de ritidoma cinzento e liso; gomos fusiformes; folhas ovadas ou ovado-oblongas, duplamente serradas, por fim glabras, com as nervuras secundárias bem vincadas; frutos pequenos, dispostos na axila de grandes brácteas trilobadas e reunidos em amentilhos pendentes.

Distribuição geográfica: Da Europa à Pérsia.

Notas: Exemplares antigos não frutíferos no Vale dos

Abetos e um grande exemplar frutífero ao cimo da escadaria da Fonte Fria.

57 — ***Corylus Avellana*** L. for. ***fusco-rubra*** Dipp., Handb. Laubh. II: 128 (1892).

Arbusto elevado; gomos ovoides; folhas suborbiculares ou orbicular-obovadas, cuspidadas, purpúreas ou vermelho-acastanhadas, pubescentes na página inferior; frutos grandes, globosos ou ovoides, protegidos cada um por uma cúpula foliácea irregularmente fendida.

Origem: Hortícola.

Notas: No Vale dos Fetos, estão plantados vários exemplares.

FAGACEAE

58 — ***Quercus palustris*** Muenchh., Hausv. V: 253 (1770).

Árvore elevada; raminhos em breve glabros; folhas caducas, elípticas ou elíptico-oblongas, com 8-12 cm, penatifendidas, com 5-7 lobos oblongos ou oblongo-lanceolados remotamente dentados, com o ápice e os lobos aristados, glabras exceptuando as tufos de pelos axilares na página inferior; glande subhemisférica, com 10-15 mm.

Distribuição geográfica: Sudoeste da América do Norte.

Notas: Exemplar antigo ao fundo do Arboreto.

59 — ***Quercus borealis*** Michx. f., N. Amer. Sylva I: 98, t. 26 (1819).

Árvore mediana; raminhos em breve glabros: folhas caducas, oblongas, com 12-22 cm, penatilobadas, com 7-11 lobos triangular-ovados ou ovado-oblongos com poucos dentes, com o ápice e os lobos aristados, glabras exceptuando os tufos de pelos axilares na página inferior; glande ovoide, com 20-25 mm.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Exemplar novo não frutífero, na encosta abaixo das Portas da Rainha.

60 — ***Quercus Suber*** L., Sp. Pl. ed. 1: 995 (1753).

Árvore mediana, de ampla copa e ritidoma suberoso

espessso; raminhos tomentosos; folhas persistentes, ovadas ou ovado-oblongas, com 3-7 cm (maiores em ramos de sombra), dentado-mucronadas, cinzento-tomentosas na página inferior; glande ovoide-oblonga, com 15-30 mm.

Distribuição geográfica: Região Mediterrânea.

Notas: Encontram-se no Buçaco bastantes exemplares desta espécie, de diversas idades, espontâneos ou de introdução remota.

61 — ***Quercus pyrenaica*** Willd. in L., Sp. Pl. ed. 4, IV (1): 451 (1805).

Q. pubescens Brot., Fl. lusit. II: 31 (1804), non Willd. (1796).

Q. Tauzin Pers., Syn. Pl. II: 571 (1807).

Q. Tauza Desf., Hist. Arbr. et Arbriss. II: 510 (1809) nom. illegit.

Q. Toza DC. ex Batard, Essai: 346 (1809).

Árvore mediana; raminhos tomentosos; folhas caducas, obovadas ou obovado-oblongas, com 6-15 cm (maiores nos ramos de sombra), penatifendidas ou penatipartidas, com 5-6 pares de lobos ou segmentos múticos, tomentosas na página inferior; glande oblongo-ovoide, com 20-35 mm.

Distribuição geográfica: Sudoeste da Europa.

Notas: Esta espécie é espontânea no Buçaco e aqui encontram-se bons exemplares; rebenta e floresce mais tarde do que a *Q. Robur* ssp. *Broteroana* O. Schwz.

Muitos autores têm designado esta espécie: *Quercus Toza* Bosc in Journ. Hist. Nat. II: 155, t. 32 f. 3 (1792). Porém, é de registar que Bosc, naquele artigo, se refere apenas às galhas observadas num carvalho dos Pirinéus, a que dá o nome vernáculo de *Toza*, como se verifica na transcrição seguinte: «Cette galle...ne se trouve jamais, d'après l'observation de M. Gillet, que sur une espèce de Chêne que ce Naturaliste croit propre aux Pyrénées, qui y est connu sous le nom de *Toza*, et qui a de grands rapports avec le *Quercus cerris* de Linnaeus.» O próprio Bosc, *in* Mém. Inst. Nat. Sci. et Arts (Sci. Math. et Phys.) VIII: 317 (Jul. 1807), escreve: «Le *chêne toza* ou *tauzin, quercus pyrenaica*, Willd.,...» e (op. cit. 317-8): «Je l'ai figuré à l'occasion d'une galle particulière qu'il fournit,

vol. 2 du *Journal d'Histoire naturelle.*» Do exposto, torna-se bem patente a nulidade do binome *Quercus Toza* Bosc.

62 — ***Quercus Robur*** L. ssp. ***Broteroana*** O. Schwz., Monogr. 108 (1936).
Q. racemosa Lam. sec. Brot., Fl. lusit. II: 30 (1804), non Lam. (1785).
Q. pedunculata Ehrh. sec. P. Cout. in Bol. Soc. Brot., sér. 1, VI: 57 (1888); non Ehrh. ex Hoffm. (1791).

Àrvore elevada, de copa ampla; raminhos glabros; folhas caducas, obovadas ou obovado-oblongas (as dos rebentos estivais oblongas), com 5-12 cm (maiores nos ramos de sombra), penatilobadas, glabras em ambas as páginas; glande oblonga ou obovoide, com 20-40 mm.

Distribuição geográfica: Península Ibérica.

Notas: Espontânea no Buçaco, onde se encontram belos exemplares, dos quais destacamos o maior, sito no Vale dos Abetos, com cerca de 30 m de altura e 125 cm de DAP.

63 — ***Quercus Prinus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 995 (1753).

Árvore elevada; raminhos em breve glabros; folhas caducas, obovadas ou obovado-oblongas, com 10-15 cm (maiores nos ramos de sombra), com 10-14 pares de dentes obtusiúsculos frequentemente mucronados, tomentulosas na página inferior; glande ovoide-oblonga, com 25-35 mm.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Um exemplar antigo atrás das Estufas, que floresce mas cujos frutos nem sempre vingam. Este exemplar é conhecido no Buçaco sob o nome de *Quercus castanaeifolia*. A verdadeira *Q. castanaeifolia* C. A. Mey., do Cáucaso e da Pérsia, distingue-se perfeitamente da *Q. Prinus* L. por: gomos terminal e axilares com longas estípulas filiformes persistentes; folhas grosseiramente serradas com dentes mucronados; cúpula com escamas assoveladas patentes (romboide-mucronadas e aplicadas na *Q. Prinus* L.).

ULMACEAE

64 — ***Ulmus glabra*** Huds. for. ***pendula*** (Loud.) Rehd. in Mitt. Deutsch. Dendr. Ges. XIV: 216 (1916).

Árvore pouco elevada, não emitindo polas, de ritidoma liso por muitos anos e de pernadas patentes com ramos compridos e pendentes; raminhos pubescentes; folhas caducas, subsésseis, de oblongo-obovadas a obovadas, cuspidadas, com 8-16 cm, duplamente serradas, ásperas na página superior e pubescentes na inferior; sâmara obovada ou orbicular-elíptica, glabra, com 20-25 mm e semente inserida a meio.

Origem: Forma hortícola obtida por volta de 1816 no viveiro de Perth (Inglaterra).

Notas: Um exemplar frutífero no Jardim diante da garage do Palácio Hotel.

MAGNOLIACEAE

65 — ***Magnolia tripetala*** L., Syst. Nat. ed. 10: 1082 (1759).

Pequena árvore; ramos e gomos glabros; folhas caducas, oblongo-obovadas, com 25-60 cm, pálidas e pubescentes na página inferior pelo menos a princípio; flores brancas, com 18-25 cm de diâmetro, de cheiro intenso: 6-9 pétalas oblongo--obovadas maiores do que as 3 sépalas verde-claras; fruto múltiplo ovoide-oblongo, rosado.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Um exemplar novo frutífero no Vale dos Fetos.

66 — ***Magnolia grandiflora*** L., Syst. Nat. ed. 10: 1082 (1759).

Árvore elevada; ramos e gomos ferruginoso-pubescentes; folhas persistentes, lanceoladas ou elípticas, com 12-20 cm, coriáceas, ferruginoso-pubescentes na página inferior; flores brancas, com 15-20 cm de diâmetro, cheirosas, com 3 sépalas petaloides e 6, raramente 9-12, pétalas obovadas; fruto múltiplo ovoide, ferruginoso-tomentoso.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Exemplar antigo frutífero no jardim junto ao Palácio Hotel.

67 — ***Liriodendron Tulipifera*** L., Sp. Pl. ed. 1: 535 (1753).

Árvore elevada; folhas caducas, suborbiculares, tetralobadas, com 7-15 cm, glabras; flores pouco cheirosas e vistosas,

com 3-5 cm de diâmetro; sépalas ovado-lanceoladas branco--esverdeadas e pétalas oblongo-obovadas, branco-esverdeadas com uma mancha alaranjada larga na base; fruto múltiplo com 6-8 cm, oblongo-cónico, de sâmaras separando-se por fim do ráquis.

Distribuição geográfica: Sudeste da América do Norte.

Notas: Vários exemplares frutíferos na Cova da Raposa, que dão semente fértil e que têm regeneração natural.

LAURACEAE

68 — ***Cinnamomum Camphora*** (L.) Nees et Eberm., Handb. II: 430 (1831).

Árvore mediana, de copa ampla; folhas persistentes, elípticas, inteiras, agudas, com 2-9 cm, glabras e trinérveas na base; flores reunidas em cimeiras racimosas paucifloras; baga globosa, negra, com 7-10 mm.

Distribuição geográfica: Japão e China meridional.

Notas: Existem dois exemplares no jardim das Estufas, antigos, mas que não frutificam.

PITTOSPORACEAE

69 — ***Pittosporum undulatum*** Vent., Jard. Cels: t. 76 (1800).

Pequena árvore; folhas persistentes, ovado-lanceoladas, com 7-13 cm (em ramos vigorosos até 20 cm), frequentemente onduladas nas margens, glabras; flores hermafroditas, odoríferas, reunidas em cimeiras corimbiformes paucifloras terminais; pétalas lanceoladas, brancas; cápsula obovoide, alaranjada em madura, com 10-12 mm.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Encontram-se alguns exemplares desta espécie, que frutificam.

70 — ***Pittosporum microcarpum*** Putterl., Syn. Pittosp. 7 (1839).

P. eugenioides A. Cunn. in Ann. Nat. Hist. ser. 1, IV: 106 (1840) «engeinoides».

P. elegans Raoul in Ann. Sc. Nat. ser. 3, II: 121 (1844).

Pequena árvore; folhas persistentes, elípticas ou elíptico-oblongas, com 5-12 cm, frequentemente onduladas nas margens, glabras; flores poligâmicas ou dioicas, muito odoríferas, reunidas em cimeiras umbeliformes multifloras terminais; pétalas lineares, amarelo-pálidas; cápsula ovoide-apiculada, castanha em madura, com 5-7 mm.

Distribuição geográfica: Nova Zelândia.

Notas: No Buçaco existem muitos exemplares desta espécie, em grande parte tidos como *P. Tobira* (Thunb.) Ait., de que se distinguem perfeitamente pelas inflorescências, flores e frutos. Vimos exemplares entre a Fonte de S. Elias e as Portas da Rainha.

PLATANACEAE

71 — ***Platanus hybrida*** Brot., Fl. lusit. II: 487 (1804) « *hybridus* ».

P. orientalis L. var. *acerifolia* Ait., Hort. Kew. ed. 1, III: 304 (1789).

P. acerifolia (Ait.) Willd. in L., Sp. Pl. ed. 4, IV (1): 474 (1805).

Árvore elevada, de tronco simples com pernadas patentes, as inferiores pendentes nos indivíduos adultos; folhas caducas, grandes, com 5 a 3 lobos triangular-ovados ou largamente triangulares, os médios quase tão largos como compridos; capítulos frutíferos geralmente 2 por pedúnculo, menos vezes 1 ou 3, aciculosos e com cerca de 25 mm.

Origem: A origem deste plátano, muito divulgado em cultura, é desconhecida, mas supõe-se que se trata dum híbrido antigo entre as *P. occidentalis* L. e *P. orientalis* L. No entanto, já é conhecido desde o princípio do século XVIII, pois que a ele se refere a *Platanus orientalis Aceris folio* Tourn., Coroll. 41, Arb. 2 (1703).

Notas: Ao nível do quarto patamar, descendo a escadaria da Fonte Fria, está do lado direito um exemplar frutífero de fuste erecto com 20 m de altura e 40 cm de DAP, existindo outros perto das Estufas.

Durante muito tempo, houve grande confusão a respeito da identificação dos plátanos cultivados na Europa, pelo que a

distinção entre as *P. orientalis* L., *P. acerifolia* (Ait.) Willd. e *P. occidentalis* L. e as referências a estas espécies nem sempre foram correctamente apresentadas por diversos autores. Sabe-se actualmente que a *P. acerifolia* (Ait.) Willd. é a espécie mais divulgada na cultura europeia, que a *P. orientalis* L. se encontra às vezes plantada e que a *P. occidentalis* L. não se desenvolve bem na Europa. Estas espécies distinguem-se como segue:

P. orientalis L. — Árvore de copa ampla e tronco curto frequentemente dividido perto da base; ritidoma destacando-se em grandes placas; folhas truncadas ou mais ou menos acunheadas na base, 5-7-partidas com os segmentos mais compridos do que largos, por fim glabras; capítulos frutíferos 2-6 por pedúnculo, aciculosos.

P. acerifolia (Ait.) Willd. — Árvore de copa ampla e tronco simples, elevado; ritidoma destacando-se em grandes placas; folhas truncadas ou cordiformes na base, com 5 (às vezes 3) lobos largos, glabras em adultas; capítulos frutíferos geralmente 2, raramente 1 ou 3, por pedúnculo, aciculosos.

P. occidentalis L. — Árvore de copa ampla e tronco simples, elevado; ritidoma destacando-se em pequenas placas, persistente e fendido na base do tronco das árvores velhas; folhas truncadas ou cordiformes na base, frequentemente mais largas do que compridas, com 3 (raramente 5) lobos pouco pronunciados e mais largos do que compridos, flocoso-tomentulosas em novas e por fim só pubescentes sobre as nervuras da página inferior; capítulos frutíferos solitários, raramente 2 por pedúnculo, quase lisos na maturação.

Vejamos agora a descrição original de *Platanus hybrida* Brot.:

« Pl. [Platanus] foliis quinquelobis, subpalmatis, utrinque glabris; lobis acutis, dentatis.

Lusit. *Platano.*

* Colitur in solo raro subhumido, et climate Lusitano nimis laetatur. Flor. vere. Arbor procera.

Epidermidem quotannis exuit, parasitis inimicus; unde laetâ rapidâque vegetatione fruitur. Arbor, ut videtur, hybrida Plat. — orientalis et Plat. — occidentalis proles; sed foliis potius ad illum quàm ad istum accedit, ideo fortè Plat. — orientalis varietas. »

Se analisarmos esta descrição e a compararmos com as que acima demos de *P. orientalis* L., *P. acerifolia* (Ait.) Willd. e *P. occidentalis* L., tiramos as seguintes conclusões:

1.ª — A frase: folhas quinquelobadas subapalmadas glabras em ambas as páginas, da descrição de Brotero, só se pode aplicar com rigor à *P. acerifolia* (Ait.) Willd. Brotero, Comp. Bot. I: 56 (1788), denomina *apalmadas* as folhas que se dividem longitudinalmente até quase à base ou até abaixo do meio em segmentos um tanto iguais e (op. cit. II: 278-9) dá para o prefixo *sub* o significado de «quasi, hum tanto, hum pouco, particula diminutiva que se usa na composiçam de algumas palavras botanicas,...»; daqui se torna claro que, no conceito de Brotero, folhas subapalmadas são aquelas que são pouco apalmadas, isto é, folhas palmatilobadas no nosso conceito actual, o que condiz plenamente com o tipo de recorte profundo das folhas de *P. acerifolia* (Ait.) Willd.

2.ª — Sendo a *P. acerifolia* (Ait.) Willd. o plátano comummente plantado em Portugal e que, entre nós, muitíssimo bem se desenvolve, a frase de Brotero «...et climate Lusitano nimis laetatur» por inteiro se lhe aplica.

3.ª — Considerando Brotero a sua espécie como híbrido entre *P. orientalis* L. e *P. occidentalis* L. e mais se assemelhando pela folhagem com a primeira, não nos parece dúvida que Brotero conhecesse as duas espécies lineanas e, portanto, não iria tomar como híbrido exemplares com caracteres só dum progenitor.

4.ª — Alphonse de Candolle, *in* DC. Prodr. XVI (2): 159 (Jun. 1868), considera a *P. hybrida* Brot. como sinónimo da *P. occidentalis* L. O mesmo critério seguiu Pereira Coutinho, Fl. Port. ed. 2: 803 (1939). Porém, em face das descrições de *P. hybrida* Brot. e *P. occidentalis* L., não podemos, de modo algum, concordar com tal opinião. Do facto de Brotero ter a sua espécie mais afim da *P. orientalis* L., também fàcilmente se deduz que ela nunca poderia corresponder à *P. occidentalis* L.

ROSACEAE

72 — ***Spiraea cantoniensis*** Lour., Fl. Cochinch. 322 (1790). Pequeno arbusto glabro com ramos delgados; folhas

caducas, romboide-oblongas ou romboide-lanceoladas, peninérveas, inciso-serradas, com 3-5,5 cm; flores brancas com cerca de 2 cm de diâmetro, reunidas em corimbos terminais em raminhos curtos folhosos; sépalas erectas e pétalas arredondadas, maiores do que os estames; folículos paralelos.

Distribuição geográfica: China e Japão.

Notas: Vários exemplares floríferos por trás das Estufas.

73 — ***Sorbus Aria*** (L.) Crantz, Stirp. Austr. (2): 86, t. 2 f. 2 (1762).

Pequena árvore, de copa largamente piramidal ou ovoide; lançamentos tomentosos; folhas caducas, elípticas ou elíptico-oblongas, com 5-12 cm, duplamente serradas, verdes na página superior e branco-tomentosas na inferior, com 8-12 pares de nervuras secundárias; flores brancas, reunidas em corimbos terminais compostos e tomentosos; pomo subgloboso, com 12 mm, vermelho-alaranjado ou escarlate, com os lobos do cálice persistentes.

Distribuição geográfica: Europa.

Notas: Perto da Capela do Jordão, está um exemplar florífero que foi plantado depois de 1939.

74 — ***Crataegus monogyna*** Jacq., Fl. Austr. III: 50, t. 292 f. 1 (1775).

Arbusto ou pequena árvore de ampla copa; ramos frequentemente espinhosos; folhas caducas, penatifendidas com 3 a 7 lobos geralmente só com alguns dentes no ápice; flores brancas reunidas em corimbos, cada uma com 1-2 estiletes; pomo elipsoide, vermelho, monospérmico.

Distribuição geográfica: Europa, Norte de África e Ásia ocidental.

Notas: Vários exemplares frutíferos, ao cimo da calçada da Fonte Fria.

75 — ***Rosa Banksiae*** Ait. f. for. ***albo-plena*** (Rehd.) Rehd., Bibliogr. cultiv. Trees & Shrubs: 316 (1949).

Arbusto trepador, de ritidoma destacando-se em tiras castanhas e de ramos pouco ou não espinhosos; folhas persistentes, com 3-5, raramente 7, folíolos elíptico-ovados ou oblongo-

-lanceolados, serrilhados; estípulas livres, assoveladas e caducas; flores brancas, dobradas, reunidas em corimbos multifloros.

Distribuição geográfica: China.

Notas: Existe um único exemplar no Buçaco, florífero, trepando até uma altura de cerca de 25 m sobre um exemplar antigo de *Sequoia sempervirens* (D. Don) Endl. ao cimo do Vale dos Abetos.

76 — ***Prunus cerasifera*** Ehrh. for. ***atropurpurea*** (Jaeg.) Rehd., Bibliogr. cultiv. Trees & Shrubs: 320 (1949).
P. Pissardii Carr. in Rev. Hort. **1881**: 190 (1881).
P. cerasifera var. *Pissardii* (Carr.) Koehne ex Bailey, Stand. Cycl. Hort. V: 2825 (1916).

Pequena árvore; folhas caducas, elípticas, ovadas ou obovadas, crenuladas, purpúreas, de prefolheatura convolutosa; flores geralmente solitárias, pediceladas, rosadas; drupa sulcada, levemente pruinosa, vermelho-vinosa, subglobosa, com 20-30 mm; caroço comprimido.

Origem: Conhecida em cultura desde há muitos anos.

Notas: Exemplares frutíferos junto às Portas da Rainha.

77 — ***Prunus serrulata*** Lindl. for. ***superba*** Miyoshi in Journ. Coll. Sci. Tokyo XXXIV (1): 105, t. 16 f. 69 (10 Mart. 1916).

Pequena árvore; folhas caducas, ovadas ou ovado-lanceoladas, raramente obovadas, cuspidadas, serradas ou duplamente serradas com dentes mucronados, verdes na página superior e glaucescentes na inferior, de prefolheatura conduplicada; flores contemporâneas com as folhas, rosado-pálidas, longamente pediceladas, dobradas, grandes e reunidas em cachos paucifloros com brácteas foliáceas.

Origem: Cultivada de há muito tempo no Japão.

Notas: Exemplares floríferos no sítio dos Aviários.

78 — ***Prunus serotina*** Ehrh., Beitr. Naturk. III: 20 (1788).

Árvore mediana; folhas caducas, obovado-oblongas ou elípticas, mais ou menos cuspidadas, serrilhadas, glabras na página superior e pubescentes ao longo da nervura primária na inferior, de prefolheatura conduplicada; flores brancas, com cerca de 1 cm de diâmetro, curtamente pediceladas, reunidas

em cachos multifloros erectos e com brácteas pequenas; drupa globosa, negra, com 8-10 mm; caroço obovoide, liso.

Distribuição geográfica: América do Norte.

Notas: Existem vários exemplares frutíferos, dando semente fértil, no Buçaco.

79 — ***Prunus lusitanica*** L., Sp. Pl. ed. 1: 473 (1753).

Arbusto ou árvore; folhas persistentes, ovado-lanceoladas, serradas, verde-escuras na página superior, de prefolheatura conduplicada, menores do que os cachos; flores brancas, reunidas em cachos multifloros erectos; drupa ovoide-cónica, com 8 mm, purpúreo-anegrada; caroço ovoide.

Distribuição geográfica: Península Ibérica.

Notas: Esta espécie é espontânea no Buçaco, onde se encontram bons exemplares.

80 — ***Prunus Laurocerasus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 474 (1753).

Arbusto ou pequena árvore; folhas persistentes, oblongas ou obovado-oblongas, subinteiras, verde-vivo na página superior, de prefolheatura conduplicada, maiores do que os cachos; flores brancas, reunidas em cachos multifloros erectos; drupa cónico-ovoide, com 8-12 mm, negro-purpúrea; caroço ovoide.

Distribuição geográfica: Sudeste da Europa e Ásia Menor.

Notas: Vários exemplares frutíferos perto das Portas da Rainha.

LEGUMINOSAE

81 — ***Acacia verticillata*** (L'Hér.) Willd. in L., Sp. Pl. ed. 4, IV (2): 1049 (1806).

Arbusto ou pequena árvore; filódios subverticilados ou alternos, linear-assovelados, pequenos, uninérvios, mucronado-vulnerantes; flores reunidas em espigas axilares, multifloras, pedunculadas; vagem comprida, recta ou pouco curva, com 50-80 $\times$ 3 mm; semente com funículo esbranquiçado, equilongo.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Diversos exemplares frutíferos, alguns produzindo semente fértil.

82 — ***Acacia melanoxylon*** R. Br. in Ait., Hort. Kew. ed. 2, V: 462 (1813).

Árvore elevada; filódios lanceolados ou oblongo-lanceolados ou oblongo-obovados, alternos, grandes, com 2-4 nervuras longitudinais, múticos; flores reunidas em capítulos globosos, estes 3 a 5 num cacho; vagem comprimida, bastante contorcida, com 70-130 × 8-10 mm; semente com funículo avermelhado enrolado duplamente sobre ela.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Vários exemplares frutíferos que produzem semente fértil; na encosta abaixo das Portas da Rainha, há um exemplar com cerca de 30 m de altura. Segundo informação do Reg. Flor. José de Mello de Figueiredo, houve no Vale da Ribeira um exemplar que media aos 42 anos 40 m de altura e 90 cm de DAP, dimensões estas extraordinárias para esta espécie.

83 — ***Acacia dealbata*** Link, Enum. Hort. Berol. II: 445 (1822).

A. decurrens Willd. var. *dealbata* (Link) F. Muell. ex Maiden, For. Fl. N. S. Wales III: 56 (1908).

Árvore elevada; folhas recompostas, glaucas ou glaucescentes, com 8-26 pares de pínulas e estas com 20-50 pares de folíolos lineares, obtusos e com 2-3 mm; flores dispostas em capítulos globosos multifloros e estes em cachos geralmente compostos; vagem submoniliforme, pouco contorcida, com 40--110 × 10-12 mm; semente com funículo equilongo terminando num arilo prateado.

Distribuição geográfica: Austrália meridional e Tasmânia.

Notas: Exemplares frutíferos, que dão semente fértil, junto ao lago grande abaixo da Fonte Fria.

84 — ***Cercis Siliquastrum*** L., Sp. Pl. ed. 1: 374 (1753).

Pequena árvore; gomos sobrepostos, pequenos; folhas caducas, reniformes ou orbiculares, inteiras, glabras, verde--claras; flores anteriores às folhas, rosado-purpurascentes, reunidas 3-6 em fascículos; vagem pendente, comprimida, oblonga, com 7-10 cm; semente negra.

Distribuição geográfica: Europa meridional e Ásia ocidental.

Notas: Exemplares floríferos dos lados da escadaria da Fonte Fria.

85 — ***Sophora japonica*** L. for. ***pendula*** (Sweet) Zabel in Beissn. et al., Handb. Laubh.-Ben. 256 (1903).

Árvore pouco elevada com pernadas tortuosas e ramos longamente pendentes formando copa arredondada compacta; folhas caducas, com 7-17 folíolos peciolulados, ovados ou ovado-lanceolados, inteiros, com 25-50 mm; flores amarelo-pálidas reunidas em amplas panículas terminais; vagem moniliforme, com 1-6 sementes.

Origem: Não se sabe ao certo a origem desta variedade, que já é conhecida de autores europeus desde há mais de um século.

Notas: Um exemplar, que floresce mas não frutifica, no jardim junto ao Palácio Hotel.

86 — ***Laburnum anagyroides*** Med. in Vorl. Kurpfälz. Phys.-ökon. Ges. II: 363 (1787).

Cytisus Laburnum L., Sp. Pl. ed. 1: 739 (1753).

Arbusto ou pequena árvore; folhas caducas, trifoliadas, pecioladas, com folíolos elípticos ou elíptico-oblongos ou elíptico-obovados, verde-acinzentadas e acetinadas em novas; flores amarelas, maiores do que os pedicelos, reunidas em cachos alongados pendentes; vagem com cerca de 5 cm, com pubescência aplicada.

Distribuição geográfica: Europa meridional.

Notas: Exemplar frutífero que produz semente fértil, atrás das Estufas.

87 — ***Wisteria floribunda*** (Willd.) DC. for. ***floribunda***.

Glycine floribunda Willd. in L., Sp. Pl. ed. 4, III (2): 1066 (1802).

W. floribunda (Willd.) DC., Prodr. II: 390 (1825).

Arbusto sarmentoso, trepador; folhas caducas, com 13-19 folíolos ovado-elípticos ou ovado-oblongos, acuminados no ápice e arredondados na base, não celheados; flores violáceas ou violáceo-azuladas, com 1,5-2 cm, dispostas em cachos pendentes com 20-50 cm e abrindo gradualmente da base para o vértice do cacho; vagem com 10-15 cm, aveludada.

Distribuição geográfica: Japão.

Notas: Floresce no Buçaco.

88 — ***Wisteria floribunda*** for. ***alba*** (Carr.) Rehd. et Wils. in Sarg., Pl. Wilson. II: 512 (Dec. 1915).

Difere do n.º 87 por: cachos até 60 cm e flores brancas.

Distribuição geográfica: Japão (cultivada).

Notas: Floresce no Buçaco.

89 — ***Wisteria floribunda*** for. ***rosea*** (Bean) Rehd. et Wils. loc. cit.

Difere do n.º 87 por: flores branco-rosadas com as pontas das asas e da quilha purpúreas.

Distribuição geográfica: Japão (cultivada).

Notas: Floresce no Buçaco.

90 — ***Wisteria floribunda*** for. ***violaceo-plena*** (Carr.) Rehd. et Wils. loc. cit.

Difere do n.º 87 por: flores dobradas, violáceas.

Distribuição geográfica: Japão (cultivada).

Notas: Exemplares floríferos no jardim junto do Palácio Hotel.

91 — ***Wisteria sinensis*** (Sims) DC. for. ***sinensis.***

Glycine sinensis Sims in Bot. Mag. XLVI: t. 2083 (1819).

W. sinensis (Sims) DC., Prodr. II: 390 (1825) «*chinensis*»

Arbusto sarmentoso, trepador; folhas caducas, com 7-13 folíolos ovado-oblongos ou ovado-lanceolados, cuspidados no ápice e acunheados na base, celheados; flores azul-violáceas, com 2-2,5 cm, dispostas em cachos pendentes com 15-30 cm e abrindo todas dum mesmo cacho quase simultâneamente; vagem com 10-15 cm, densamente aveludada.

Distribuição geográfica: China.

Notas: Exemplares frutíferos, dando semente fértil, perto das Portas da Rainha e no jardim junto do Palácio Hotel.

92 — ***Wisteria sinensis*** for. ***alba*** (Lindl.) Rehd. et Wils. in Sarg., Pl. Wilson. II: 510 (Dec. 1915).

Difere do n.º 91 por ter as flores brancas.

Distribuição geográfica: China.

Notas: Floresce no Buçaco.

AQUIFOLIACEAE

93 — ***Ilex Aquifolium*** L., Sp. Pl. ed. 1: 125 (1753).

Árvore de pernadas patentes e curtas formando copa densa piramidal; folhas persistentes, coriáceas, ovadas, elípticas ou oblongo-ovadas, muito brilhantes, onduladas nas margens e com dentes mucronados nos indivíduos novos e lisas e inteiras ou subinteiras nas árvores velhas; flores brancas, pequenas, fasciculado-cimosas; drupas globosas, vermelho-vivo, com 7-10 mm.

Distribuição geográfica: Europa ocidental e meridional, Norte de África e da Ásia ocidental até à China.

Notas: Exemplares frutíferos próximo da Capela de S. Elias.

CELASTRACEAE

94 — ***Euonymus japonica*** Thunb. for. ***japonica.***

E. japonica Thunb. in Nov. Act. Soc. Sci. Upsal. III: 208 (1780); L. f., Suppl. 154 (1781).

Arbusto ou pequena árvore; folhas persistentes, coriáceas, de obovadas a oblongo-elípticas, crenado-serradas, verde-escuro-brilhantes na página superior, com 3-7 cm; flores pequenas, branco-esverdeadas, reunidas em cimeiras pedunculadas e 5-12-floras; fruto subgloboso, com cerca de 8 mm, rosado e liso.

Distribuição geográfica: Sul do Japão.

Notas: Encontram-se diversos exemplares na Mata do Buçaco.

95 — ***Euonymus japonica*** for. ***argenteo-variegata*** (Reg.) Rehd., Bibliogr. cultiv. Trees & Shrubs: 408 (1949).

Difere do n.º 94 por ter as folhas variegadas de branco.

Notas: Vários exemplares existem no Buçaco.

96 — ***Euonymus japonica*** for. ***aureo-variegata*** (Reg.) Rehd., loc. cit.

Difere do n.º 94 por ter as folhas variegadas de amarelo.

Notas: No Buçaco, encontram-se alguns exemplares.

ACERACEAE

97 — ***Acer macrophyllum*** Pursh, Fl. Am. Sept. I: 267 (1814).

Árvore elevada; ramos grossos, glabros; folhas caducas, com 20-30 cm, verde-escuras na página superior e verde-claras na inferior, 3-5-lobadas ou fendidas, o lobo médio geralmente 3-lobulado e os outros grosseiramente dentados; flores amarelas, odoríferas, reunidas em estreitas panículas pendentes terminais em ramos curtos folhosos; dissâmara híspida sobre as sementes e com as asas em ângulo recto.

Distribuição geográfica: América do Norte ocidental (da Colômbia Britânica à Califórnia).

Notas: Um exemplar antigo frutífero no Vale dos Abetos.

98 — ***Acer Pseudoplatanus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 1054 (1753).

Árvore elevada; ramos glabros; folhas caducas, com 8-16 cm, verde-escuras na página superior e glaucas na inferior, 5-lobadas, de lobos grosseiramente crenado-serrados; flores verde-amareladas, reunidas em estreitas panículas pendentes terminais em ramos curtos folhosos; dissâmara glabra, de asas em ângulo agudo ou recto.

Distribuição geográfica: Europa e Ásia ocidental.

Notas: Esta espécie é espontânea no Buçaco, onde se encontram bons exemplares; ao cimo da escadaria da Fonte Fria, está um exemplar frutífero com 23 m de altura.

99 — ***Acer palmatum*** Thunb. var. ***palmatum.***

A. palmatum Thunb. in Nov. Act. Soc. Sci. Upsal. IV: 40 (1783).

Arbusto ou pequena árvore; ramos delgados, glabros; folhas caducas, com 5-10 cm, verde-vivo, 5-fendidas (às vezes com 7 ou 9 lobos), de lobos oblongo-lanceolados, grosseira e duplamente serrados ou inciso-serrados; flores purpúreas, reunidas em corimbos paucifloros terminais em ramos curtos; dissâmara glabra, de asas em ângulo obtuso e depois incurvadas.

Distribuição geográfica: Japão.

Notas: Um exemplar novo, plantado depois do ciclone de 15-II-1941, no talhão acima do lago da Fonte Fria.

100 — ***Acer rubrum*** L. var. ***tomentosum*** (Desf.) K. Koch, Hort. Dendr. 80 (1853).

Árvore elevada; ramos glabros; folhas caducas, com 6-10 cm, pubescentes ou quase tomentosas na página inferior, tornando-se escarlates e amarelas na queda, 5-lobadas, de lobos ovado-triangulares, acuminados e desigualmente crenado-serrados; flores vermelhas, dióicas ou monóicas, reunidas em fascículos axilares bastante anteriores às novas folhas; dissâmara glabra, de asas em ângulo agudo.

Distribuição geográfica: Sudoeste da América do Norte.

Notas: No Vale dos Abetos, existe um exemplar antigo frutífero, cujas sementes mantêm a faculdade germinativa por muito curto prazo, e próximo da Capela de S. Elias estão outros dois, também frutíferos.

HIPPOCASTANACEAE

101 — ***AEsculus Hippocastanum*** L., Sp. Pl. ed. 1: 344 (1753).

Árvore mediana; folhas caducas, digitadas, com 5-7 folíolos obovado-acunheados, com 10-25 cm, verde-vivo; flores brancas, variegadas de vermelho, reunidas em panículas erectas com 20-30 cm; cápsula globosa, espinhosa, com cerca de 6 cm.

Distribuição geográfica: Europa meridional (Península Balcânica).

Notas: Vários exemplares, perto do cimo da escadaria da Fonte Fria, que florescem, frutificando apenas os que estão mais ao Sol.

102 — × ***AEsculus carnea*** Hayne, Dendrol. Flora: 43 (1822).
AE. rubicunda Loisel., Herb. Amat. VI: t. 357 (1822).

Árvore mediana; folhas caducas, digitadas, geralmente com 5 folíolos obovado-acunheados, com 8-15 cm, verde-escuros; flores vermelho-rosadas ou escarlates, reunidas em panículas erectas com 10-20 cm; cápsula globosa, pouco espinhosa, com 3-4 cm.

Origem: Esta espécie é considerada como um híbrido entre a espécie anterior e a *AE. Pavia* L.

Notas: Na Mata Moraes Soares, existem exemplares que florescem e frutificam muito.

TILIACEAE

103 — ***Tilia platyphyllos*** Scop., Fl. Carn. ed. 2, I: 373 (1772).

Árvore elevada; folhas caducas, assimètricamente cordiforme-orbiculares, cuspidadas, regularmente serradas, verde--claras e pubescentes (sobretudo nas nervuras) na página inferior; flores reunidas em cimeiras geralmente trifloras, pendentes; fruto subgloboso ou piriforme, 5-costado, de pericarpo rígido.

Distribuição geográfica: Europa.

Notas: Na Mata Moraes Soares, existem quatro exemplares frutíferos, cujas sementes germinam muito bem, e, no talhão à direita ao fundo da escadaria da Fonte Fria, está um exemplar novo que ainda não floresceu.

104 — ***Tilia tomentosa*** Moench, Verz. Ausl. Bäume Weissenst. 137 (1785).

T. argentea DC., Cat. Fl. Hort. Monsp. 150 (1813) nom. illegit.

Árvore elevada; folhas caducas, assimètricamente cordiforme-orbiculares, cuspidadas, serradas às vezes duplamente ou mesmo sublobadas, branco-tomentosas na página inferior; flores reunidas em cimeiras 7-10-floras, pendentes; fruto ovoide, levemente 5-costado e verrugoso.

Distribuição geográfica: Sudeste da Europa e Ásia ocidental.

Notas: À direita, ao fundo da escadaria da Fonte Fria, está um exemplar novo que ainda não floresceu.

MALVACEAE

105 — ***Hibiscus syriacus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 695 (1753).

Arbusto elevado; folhas caducas, curtamente pecioladas, trinérveas na base, triangular-ovadas ou romboide-ovadas, as inferiores frequentemente trilobadas, dentado-serradas; flores

solitárias, axilares nas folhas do ano, curtamente pedunculadas, azul-purpúreas, violáceo-avermelhadas, rosadas ou brancas; epicálice com 6-7 bractéolas lineares menores do que as sépalas ovado-lanceoladas; cápsula deiscente por 5 valvas.

Distribuição geográfica: China.

Notas: Vários exemplares no sítio dos Aviários e no jardim em frente da garage do Palácio Hotel.

STERCULIACEAE

106 — ***Sterculia diversifolia*** G. Don, Gen. Syst. I: 516 (1831).

Brachychiton populneum R. Br. in Benn., Pl. Jav. Rar. 234 (1844).

B. diversifolium R. Br., loc. cit.

Árvore mediana; folhas persistentes, muito polimorfas, ovadas ou ovado-lanceoladas, inteiras ou lobadas, fendidas ou partidas, verde-escuro-brilhantes na página superior, glabras, com 4-9 × 2,5-5 cm; flores reunidas em cimeiras paniculadas axilares, apétalas e com o cálice sinsépalo, campanulado, esverdeado por fora e variegado de vermelho por dentro; fruto múltiplo de folículos lenhosos, ovoide-rostrados.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Dois exemplares adultos, que florescem mas não frutificam, ao fundo da Escada do Carregal.

107 — ***Firmiana platanifolia*** (L. f.) Schott et Endl., Melet. Bot. 30 (1832).

Sterculia platanifolia L. f., Suppl. 423 (1781).

Árvore mediana; folhas caducas, cordiforme-orbiculares, com 15-30 cm, palmatilobadas ou palmatifendidas com 3-5 lobos acuminados, glabras ou tomentulosas na página inferior, de pecíolo com 5-15 cm; flores reunidas em cimeiras paniculadas terminais, apétalas e com o cálice sinsépalo esverdeado; fruto múltiplo de 4-5 folículos coriáceos abrindo antes da maturação, cada um ficando como que uma folha provida, nas margens da metade inferior, de várias sementes pisiformes.

Distribuição geográfica: China e Japão.

Notas: Um exemplar antigo, que não floresce, perto da Cascata de S. Silvestre.

MYRTACEAE

108 — ***Syzygium Jambos*** (L.) Alston in Tremen, Handb. Fl. Ceyl. VI (Suppl.): 115 (1931).
Eugenia Jambos L., Sp. Pl. ed. 1: 470 (1753).
Jambosa vulgaris DC., Prodr. III: 286 (1828).
Jambosa Jambos (L.) Millsp. in Field. Columb. Mus. Bot. II: 80 (1900).

Pequena árvore; folhas persistentes, opostas, lanceoladas, acuminadas, coriáceas, com 12-20 × 2,5-5 cm; flores vistosas, branco-esverdeadas, reunidas em cimeiras paucifloras, de pétalas patentes e livres; baga piriforme, coroada pelo cálice, com 4-5 cm, verde arroxeada em nova e branca ou amarelada com laivos rosados quando madura.

Distribuição geográfica: Indo-Malásia.

Notas: Existem alguns exemplares, cujos frutos não chegam a amadurecer, no jardim das Estufas.

109 — ***Melaleuca hypericifolia*** Sm. in Trans. Linn. Soc. III: 279 (1797).

Arbusto; folhas persistentes, opostas, lanceoladas ou oblongas, com 2-5 cm, coriáceas, na página inferior com a nervura primária proeminente e numerosas glândulas secretórias; flores vermelho-escuras, reunidas em densas espigas, cujo ráquis se alonga num ramo vegetativo; corola com as pétalas patentes, caducas; estames com 2-2,5 cm, reunidos pelos filetes em cinco grupos oposipétalos; cápsula persistente, subglobosa.

Distribuição geográfica: Austrália.

Notas: Na Mata Moraes Soares, foram plantados, após o ciclone de 15-II-1941, vários exemplares que frutificam.

110 — ***Eucalyptus globulus*** Labill., Rel. Voy. de La Pérouse, I: 151-3 (1800), Atlas t. 13 (1800).

Árvore elevada; folhas juvenis opostas, sésseis, ovadas e glaucas, as adultas alternas, pecioladas, lanceolado-falciformes, agudas e verde-brilhantes, com 10-30 × 3-4 cm; flores sésseis ou subsésseis, solitárias ou reunidas em cimeiras trifloras, grandes, de cálice tetragonal, verrugoso e glauco-pruinoso, opérculo deprimido-hemisférico mas proeminente a meio, verru-

goso e glauco-pruinoso, estames com os filetes brancos e as anteras deiscentes por fendas longitudinais paralelas; cápsula com 10-15 × 15-30 mm, espessa, verrugosa, sub-hemisférica ou obpiramidal, de valvas não exsertas.

Distribuição geográfica: Tasmânia.

Notas: Vários exemplares adultos frutíferos.

111 — ***Eucalyptus regnans*** F. Muell., Rept. Accl. Soc. Vict. Plants I: 236 (1887-8).

E. amygdalina var. *regnans* F. Muell. Rept. Accl. Soc. Vict. 48 (1870) nom. provis.; F. Muell. ex J. B. Davy in Bailey, Cycl. Am. Hort. II: 555 (1900).

Árvore muito elevada; folhas juvenis opostas, curtamente pecioladas, largamente lanceoladas, remotamente denticuladas e verde-escuras, as adultas alternas, pecioladas, linear-lanceoladas, acuminadas e verde-brilhantes, com 10-16 × 2-2,5 cm; flores pediceladas, pequenas, reunidas em umbelas 7-12-floras, axilares, geralmente geminadas e de pedúnculo delgado e roliço; opérculo hemisférico, menor do que o tubo do cálice; estames com os filetes brancos e as anteras reniformes, deiscentes por fendas longitudinais divergentes; cápsula com 7-8 × 5-6 mm, pedicelada, pouco espessa, semi-ovada ou campanulada, de valvas geralmente inclusas.

Distribuição geográfica: Tasmânia.

Notas: Dentro da curva da estrada, ao fundo do Vale de S. Elias, está um exemplar frutífero com 30-35 m de altura e 190 cm de DAP.

112 — ***Eucalyptus obliqua*** L'Hér., Sert. Angl. 18, t. 20 (1788).

Árvore elevada; folhas juvenis opostas, pecioladas, largamente lanceoladas, denticuladas, verdes, as adultas alternas, pecioladas, falciformes, bastante assimétricas na base, acuminadas, verdes, com 10-16 × 2-3 cm; flores pediceladas, pequenas, reunidas em umbelas axilares 7-16-floras com pedúnculo comprimido; opérculo hemisférico, obtuso ou mucronado, bastante menor do que o tubo do cálice obcónico; estames com os filetes brancos e as anteras reniformes deiscentes por fendas longitudinais divergentes; cápsula com 8-9 × 8-9 mm, lenhosa, lisa, gomilosa, de valvas inclusas.

Distribuição geográfica: Austrália e Tasmânia.

Notas: Exemplares frutíferos, ao fundo da Escadaria da Fonte Fria e perto da Curva da Raposa.

Obs. — Na Mata do Buçaco, existem exemplares de outras espécies do género *Eucalyptus* L'Hér. que não conseguimos identificar por falta de material adequado.

OLEACEAE

113 — ***Fraxinus Ornus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 1057 (1753).

Pequena árvore; folhas caducas, imparipinuladas, geralmente com 7 folíolos, oblongos ou ovados, o terminal obovado, cuspidados, com 3-7 cm, irregularmente serrados; flores brancas, odoríferas, reunidas em densas panículas terminais; pétalas lineares; sâmara oblongo-linear, com 2-2,5 cm.

Distribuição geográfica: Europa meridional, Ásia ocidental.

Notas: No Pátio dos Leões, floresce e dá semente fértil; acima do lago da Fonte Fria, há um exemplar com 15 m de altura e 35 cm de DAP, que frutifica.

114 — ***Fraxinus americana*** L. var. ***juglandifolia*** [Lam.] D. J. Browne, Trees Am. 398 (1846).

Árvore elevada; folhas caducas, imparipinuladas, com 5-9 folíolos ovados ou ovado-lanceolados, acuminados, com 6-15 cm, mais ou menos serrados ou crenado-serrados, mais ou menos pubescentes e pouco glaucescentes na página inferior; flores apétalas, reunidas em panículas axilares; sâmara oblongo--linear, com 3-5 cm.

Distribuição geográfica: Leste da América do Norte.

Notas: Dois exemplares na Mata Moraes Soares e outros na Fonte Fria, frutíferos e produtores de semente fértil; os exemplares da Fonte Fria têm cerca de 30 m de altura e 115 cm de DAP.

115 — ***Phillyrea latifolia*** L., Sp. Pl. ed. 1: 8 (1753).

Arbusto ou pequena árvore: folhas biformes: 1) do tipo juvenil, cordiforme-ovadas, serradas e subespinhosas, e 2) do tipo adulto, ovadas ou elíptico-ovadas, raramente ovado-oblongas, agudas, com 2-6 cm e menos serradas; flores pequenas,

esbranquiçadas, reunidas em pequenos cachos axilares; drupa subglobosa, azul-anegrada, com 5-7 mm.

Distribuição geográfica: Europa meridional e Ásia Menor.

Notas: Espontânea no Buçaco. Perto da Capela do Jordão, há um notável exemplar, com 15 m de altura e 53 cm de DAP.

SCROPHULARIACEAE

116 — ***Paulownia tomentosa*** (Thunb.) Steud., Nom. Bot. ed. 2, II: 278 (1841).

P. imperialis Sieb. et Zucc., Fl. Japon. I: 27, t. 10 (1835).

Árvore pouco elevada; folhas caducas, orbicular-cordiformes ou cordiformes, grandes, inteiras ou às vezes tendendo a trilobadas, pubescentes na página superior e densamente pubescentes ou tomentosas na inferior; flores vistosas, reunidas em amplas panículas erectas; corola oblìquamente tubuloso-afunilada, com 5-6 cm, violáceo-pálida mas listrada de amarelo par dentro; cápsula lenhosa, ovoide, com 3-4 cm.

Distribuição geográfica: China.

Notas: Um exemplar adulto frutífero, que produz semente fértil, à entrada das Estufas.

BIGNONIACEAE

117 — ***Catalpa bignonioides*** Walt., Fl. Carol. 64 (1788).

Árvore pouco elevada; folhas caducas, ovadas, às vezes sublobadas, cuspidadas, grandes, subglabras na página superior e pubescentes na inferior; flores reunidas em amplas panículas terminais erectas; corola campanulado-bilabiada, com 4-5 cm, branca mas com duas faixas amarelas e variegada de castanho-purpúreo por dentro; cápsula cilíndrica, muito estreita e comprida, com 20-40 × 0,6-0,8 cm.

Distribuição geográfica: Sudoeste da América do Norte.

Notas: Atrás das Estufas, está um exemplar adulto que produz sementes férteis.

CAPRIFOLIACEAE

118 — ***Sambucus nigra*** L. for. ***aurea*** (Sweet) Schwer. in Mitt. Deutsch. Dendr. Ges. ***1909***: 33 [1910?].

S. aurea (Sweet) Carr. in Rev. Hort. **1891** : 384 (1891).

Arbusto ou pequena árvore; raminhos cinzentos; folhas caducas, com 3-7 folíolos elípticos ou elíptico-ovados, agudos, serrados, amarelo-dourados, remotamente pubescentes sobre a nervura na página inferior; flores branco-amareladas, odoríferas, reunidas em cimeiras umbeliformes rasas quinqueradiadas; fruto negro-brilhante, com 6-8 mm.

Origem: De origem hortícola.

Notas: Ao cimo da calçada da Fonte Fria, encontram-se alguns exemplares, que frutificam.

119 — ***Viburnum Tinus*** L., Sp. Pl. ed. 1: 267 (1753).

Arbusto ou pequena árvore; raminhos glabros ou pubescentes; folhas persistentes, coriáceas, inteiras, ovado-elípticas ou elíptico-lanceoladas, agudas ou acutiúsculas, glabras e verde-escuro-brilhantes na página superior e geralmente pubescentes sobre as nervuras na página inferior, onduladas na margem; flores pequenas, reunidas em cimeiras umbeliformes, multifloras; corola branca, campanulado-rodada; drupa ovoide, azul de aço.

Distribuição geográfica: Região Mediterrânea.

Notas: Espontâneo no Buçaco, onde se encontram bons exemplares.

120 — ***Viburnum rhytidophyllum*** Hemsl. in Journ. Linn Soc. XXIII: 355 (1888).

Arbusto; raminhos estrelado-tomentosos; folhas persistentes, coriáceas, inteiras ou pouco distintamente denticuladas, ovado-oblongas ou ovado-lanceoladas, agudas ou obtusas, verde-escuro-brilhantes, glabras e muito rugosas na página superior e proeminentemente reticuladas e acinzentado- ou amarelado-tomentosas na inferior; flores pequenas, reunidas em cimeiras umbeliformes multifloras e estrelado-tomentosas; corola branco-amarelada, rodada; drupa curtamente elipsoide, primeiro vermelha e depois negro-brilhante.

Distribuição geográfica: China central e ocidental.

Notas: Exemplares floríferos perto das Cocheiras.

121 — ***Viburnum Opulus*** L. for. ***roseum*** (L.) Hegi, Ill. Fl. Mittel-Eur. VI (1): 243, f. 135 [1914].

Arbusto; raminhos glabros; folhas caducas, membranosas, ovado-orbiculares, com 3-5 lobos agudos dentados, pubescentes ou às vezes glabras na página inferior, tornando-se de um vermelho intenso na queda; flores grandes, estéreis, rosadas, reunidas em cimeiras globosas multifloras.

Origem: Hortícola.

Notas: No sítio dos Aviários e junto da escadaria da Fonte Fria, estão vários exemplares que florescem.

122 — ***Weigela floribunda*** (Sieb. et Zucc.) K. Koch for. ***floribunda***.

Diervilla floribunda Sieb. et Zucc., Fl. Japon. I: 73, t. 32 (1838).

W. floribunda (Sieb. et Zucc.) K. Koch, Hort. Dendr. 298 (1853).

Arbusto com ramos delgados; raminhos pubescentes ou pelo menos com duas faixas longitudinais de pêlos; folhas caducas, elípticas, oblongo-ovadas ou oblongo-obovadas, serradas, pouco pubescentes na página superior e vilosas, sobretudo sobre as nervuras, na inferior; flores sésseis, fasciculadas em raminhos curtos laterais; cálice com as sépalas lineares, livres; corola vermelho-escura, tubuloso-afunilada; estilete bastante exserto; cápsula bivalve, pubescente.

Distribuição geográfica: Japão.

Notas: Vários exemplares plantados no Vale dos Fetos, que frutificam.

123 — ***Weigela floribunda*** var. ***versicolor*** (Sieb. et Zucc.) Rehd. in Journ. Arn. Arb. XX: 430 (1939).

Diervilla versicolor Sieb et Zucc., Fl. Japon. I: 74, t. 33 (1838).

D. floribunda var. *versicolor* (Sieb. et. Zucc.) Rehd. in Bailey, Cycl. Am. Hort. I: 484 (1900).

Distingue-se do n.º 119 por: folhas vilosas sobre as nervuras da página inferior e flores branco-esverdeadas a princípio, tornando-se vermelhas.

Origem: Hortícola.

Notas: Vários exemplares, que florescem, no Vale dos Fetos.

124 — ***Weigela florida*** (Bge.) A. DC. for. ***variegata*** (Bean) Rehd., Bibliogr. cultiv. Trees & Shrubs: 613 (1989).

Arbusto; raminhos com duas faixas longitudinais de pêlos; folhas caducas, elípticas, ovado-oblongas ou obovadas, serradas, marginadas de amarelo-pálido, glabras na página superior, excepto sobre a nervura primária, e pubescentes ou tomentosas nas nervuras na inferior; cálice sinsépalo até ao meio e com os segmentos lanceolados; corola afunilado-campanulada, rosado--intenso; cápsula bivalve, glabra.

Origem: Hortícola.

Notas: Existem exemplares frutíferos no Vale dos Fetos.

ERRATA

Pág. 206, nota, alínea c), onde se lê:
Quirivela frutescens (L.) Pers., leia-se
Apocynum frutescens L.

SUR L'HÉTÉROCHROMATINISATION DES CHROMOSOMES NUCLÉOLAIRES

par

A. FERNANDES

Institut Botanique de l'Université de Coimbra, Portugal

INTRODUCTION

DES recherches tout à fait remarquables ont amené HEITZ (1931 *a, b*) à établir que les nucléoles se condensent, à la télophase, sur certains chromosomes des garnitures, et que l'emplacement de cette condensation correspond aux filaments des chromosomes satellitifères ou aux filaments des constrictions secondaires nucléolaires.

D'après DOUTRELIGNE (1933), la substance nucléolaire commence à faire son apparition à la fin de l'anaphase, sous la forme d'amas rattachés généralement à des chromosomes. Ensuite, ces masses se détachent des chromosomes et s'unissent en formant un nucléole unique. DOUTRELIGNE, ne pouvant pas établir que la substance nucléolaire s'attache seulement à certains chromosomes, n'a pas réussi à confirmer les observations de HEITZ, en lui passant inaperçu le rapport existant entre la condensation nucléolaire et les filaments des satellites.

Étudiant *Pastinaca sativa* et *Scandix Pecten-Veneris*, objects sur lesquels les observations de DOUTRELIGNE ont aussi porté, HEITZ et RESENDE (in RESENDE, 1938, 1946 *b*) ont mis au point les observations de la cytologiste belge, en montrant qu'aux premiers stades de la télophase il y a déjà deux petits nucléoles, se condensant en zones fixes de la garniture chromosomique, coexistant avec la substance provenante des massues signalées par DOUTRELIGNE. Au fur et à mesure que les nucléoles croissent, cette substance disparaît, ce qui amène les auteurs à conclure que les nucléoles résultent, probablement, de la condensation de la substance provenante des massues. Ils croient de plus que cette substance, que les auteurs appèlent *substance prénucléolaire*, se transforme chimiquement en *substance nucléolaire* dans les zones où les nucléoles se condensent.

McClintock (1934), tout en confirmant les observations de Heitz (1931 *a*, *b*) en ce qui concerne la condensation des nucléoles sur les filaments des chromosomes nucléolaires, est amenée à conclure que, chez *Zea Mays*, le nucléole est élaboré par un corpuscule assez gros, morphologiquement distinct et intensément colorable par le carmin-acétique, qu'elle appele «nuclear-organizing-body». Ce corps, auquel se relie le filament du satellite, est, selon McClintock, le seul élément responsable pour la condensation du nucléole, puisque le filament n'est que secondairement formé par suite de la croissance du nucléole entre le «nucleolar-organizing-body» et le satellite.

Étudiant le comportement des satellites pendant la mitose, nous (Fernandes, 1936) nous sommes ralliés à l'opinion de McClintock, en même temps que nous avons considéré les satellites des Narcisses comme étant eux-mêmes les organisateurs nucléolaires.

Klingstedt (1941) admet aussi l'existence d'un organisateur nucléolaire, qui, à son avis, pourrait être un segment hétérochromatique spécial.

Darlington (1937) se rallie également à l'interprétation de McClintock, en admettant l'existence de l'organisateur décrit par la caryologiste américaine. Plus tard, il conçoit l'organisateur comme «one or more particular chromomeres, the nucleolar organizers, which are again compound genes breakable by X-rays, and may be either at the ends or in the middle, either in a heterochromatic or a euchromatic part of the chromosome» (Darlington, 1942, pag. 66). En 1947, finalement, Darlington décrit l'organisateur comme «a granule which secretes or collects the nucleolus», et il continue à le concevoir comme un gène composé, puisque ce granule est susceptible de se diviser en des parties fonctionnelles (Darlington, 1947, pag. 253).

Dans sa mise-au-point «Nucleoli and SAT-chromosomes», Resende (1938), en analysant le travail de McClintock, est porté à conclure *«that the organising bodies do not organize anything, play no active part in the phenomenon and even that there is not such a thing as the organising-body»* (Resende, *l. c.*, pag. 406). D'après l'opinion de cet auteur, le mécanisme de la condensation nucléolaire doit être interprété de la façon suivante:

« the regions of condensation of the nucleoli do not work actively, they are only points where the prenucleolar substance condenses itself into nucleolar substance proper. This phenomenon is genetically determined, and its verification is the great merit of McClintock's work. The genes are the only entities responsible for the physiology of nucleolar condensation. The zones of condensation neither produce nor organise nucleolar substance, they only collect» (Resende, 1938, pag. 406 et 407) ([1]).

En ce qui concerne les filaments des constrictions nucléolaires, considérés par McClintock (*l. c.*) comme des formations secondaires engendrées par la croissance du nucléole, Resende (1938), d'accord avec Heitz (1931 *a*, *b*), croit qu'ils sont nécessaires à la condensation du nucléole (*l. c.*, pag. 408). Il croit de plus que ces filaments ne sont pas distendus à la télophase par suite du développement du nucléole (Resende, 1946 *a*).

Darlington (1937) considère les constrictions (les nucléolaires y incluses) comme des régions des chromosomes qui ne subissent pas de spiralisation.

Resende (1940) croit que la zone nucléolaire possède une structure spirale, comme les autre régions des chromosomes.

Bien que n'ayant pas observé une telle structure chez *Polygonatum* et *Smilacina*, Therman-Suomalainen (1948, 1949) croit, d'accord avec Resende (1940), que les zones nucléolaires possèdent aussi, chez ces plantes, une structure spirale et que la labilité de la longueur et de la chromaticité de ces zones résulte de la variabilité de la charge de l'acide thymonucléique et de la correspondante variation de leur spiralisation.

Poursuivant les études sur les zones nucléolaires, Resende et ses collaborateurs (Resende, Lemos-Pereira et Cabral, 1944), tout en constatant que ces régions des chromosomes sont caractérisées par une grande labilité en ce qui concerne leur chromaticité, longueur, diamètre, etc., proposent qu'elles soient appelées *olisthérozones nucléolaires*. Ces zones seraient de plus

---

([1]) En connexion avec ce passage, il faut remarquer que les gènes mentionnés par Resende ne sont pas localisés dans la zone nucléolaire, mais dans la région distale du bras le plus long du chromosome 9 de la garniture de *Zea Mays*, qui n'est pas normalement nucléolaire.

constituées par une chromatine spéciale: l'*olisthérochromatine nucléolaire* (v. Resende, 1945).

En 1946, Resende essaye à déterminer la constitution histochimique probable de l'olisthérozone nucléolaire, en aboutissant, au moyen de raisonnements théoriques, à déduire que cette zone doit être chimiquement identique au nucléole. Il déduit de plus *«que l'olisthérochromatine nucléolaire aura approximativement la composition de l'hétérochromatine, mais sans ou avec très peu d'acide thymonucléique»* (Resende, 1946 *b*, pag. 269).

Resende et Rijo (1948), finalement, décrivent en détail ce qui ces auteurs appèlent la labilité chromatique et l'aspect pachytènique montrés par les régions olisthérochromatiques de *Ginkgo biloba*, 5 espèces de *Cycadales* et une espèce d'*Aloe*, et ils sont amenés à admettre que l'activité génique de l'olisthérochromatine nucléolaire est nulle ou tout au moins très faible (Resende et Rijo, 1948, pag. 137).

Quant aux constrictions secondaires anucléolaires, nous pourrons dire que peu est connu à leur égard. Par le fait qu'elles se comportent d'une façon semblable aux olisthérozones nucléolaires du point de vue de leur labilité et du manque ou de la petite quantité d'acide thymonucléique qu'elles possèdent, Resende, Lemos-Pereira et Cabral (1944) les désignent par le nom d'*olisthérozones anucléolaires* et ils les considèrent constituées par une sorte de chromatine appelée *olisthérochromatine anucléolaire.* Resende (1946 *b*) croit que cette chromatine est différente de l'olisthérochromatine nucléolaire et il suggère que cette différence pourra consister dans le fait de l'olisthérochromatine nucléolaire être une hétérochromatine leptochromatique et l'olisthérochromatine anucléolaire une euchromatine leptochromatique.

Ce bref exposé montre que le phénomène de la condensation nucléolaire soulève beaucoup de questions, qui, à notre avis, ne sont pas encore complètement résolues. Est-ce qu'il y a des organisateurs? Est-ce que ces éléments n'existent pas? S'ils en existent, sont-ils des corps morphologiquement distincts et intensément colorables par le carmin-acétique, comme celui décrit par McClintock chez *Zea Mays?* Correspondront-ils à un ou à plusieurs chromomères, selon la conception de Dar-

LINGTON? Sont-ils en réalité des gènes composés? Sera la condensation du nucléole commandée seulement par des gènes localisés hors les constrictions nucléolaires? Est-ce que les zones nucléolaires sont constituées par une chromatine spéciale, l'olisthérochromatine nucléolaire? Est-ce que cette chromatine aura la constitution histo-chimique suggérée par RESENDE? Est-ce que cette chromatine possède une activité génique nulle ou tout au moins très faible? Est-ce que les filaments des constrictions nucléolaires sont des formations primaires? Est-ce qu'ils sont des formations engendrées secondairement par suite de la croissance du nucléole? Est-ce que les zones nucléolaires subissent le cycle de spiralisation et despiralisation? Est-ce que la substance prénucléolaire est chimiquement différente de la substance nucléolaire? Quelle est la véritable nature des constrictions secondaires anucléolaires?

Étudiant *Narcissus Bulbocodium* L. (FERNANDES, 1949), nous avons réussi à démontrer l'existence, chez quelques populations spontanées, de plantes pourvues d'un gène dominant, H, qui contrôle la quantité de chromatine active, de telle façon que sous l'action de ce gène les chromosomes surnuméraires sont rendus hétérochromatiques. En profitant de cette particularité, nous avons essayé à étudier ce qui arrive aux chromosomes nucléolaires lorsqu'ils sont rendus hétérochromatiques par suite de croisements adéquats. Nous rapportons ici les résultats de nos recherches qui, à notre avis, jetent quelque lumière sur quelques-unes des questions qui ont été posées.

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

Nos observations ont porté sur une plante de *Narcissus asturiensis* (Jord.) Pugsley, récoltée à la Serra da Estrela, et sur quelques plantes de *N. Bulbocodium* L., obtenues au Jardin Botanique de Coimbra au moyen de certains croisements décrits dans un travail antérieur (v. FERNANDES, 1949). Ces plantes de *N. Bulbocodium* L. sont ici indiquées par les désignations qu'elles portent ou ont porté (quelques-unes de ces plantes sont mortes) dans nos cultures et leur origine est indiquée dans le chapitre des observations.

Les bulbes de ces plantes, cultivés en pots au Jardin Bota-

nique, ont fourni des méristèmes radiculaires qui ont été fixés au liquide de Nawaschin (modification de Bruun). Après la fixation, les pointes des racines ont été incluses à la paraffine et ensuite débitées en coupes transversales d'une épaisseur de 18 μ. Ces coupes ont été colorées par l'hématoxyline ferrique. Nous avons choisi ce colorant, au lieu du violet de gentiane, par le fait que les préparations colorées par l'hématoxyline ne se décolorent pas. D'autre part, nous avons constaté que, chez les Narcisses, l'hématoxyline rend les chromocentres correspondant aux hétérochromatinosomes beaucoup plus nets que le violet de gentiane. Cette netteté est aussi bien supérieure à celle montrée par les préparations exécutées par l'emploi du «Nukleal-Quetschmethode» de Heitz (1936).

OBSERVATIONS

1. *Narcissus asturiensis* (Jord.) Pugsley

Les plantes normales de cette espèce possèdent 14 chromosomes dont une paire satellitifère (Fernandes et Fernandes, 1946). En dehors les satellites, cette paire est distincte de toutes les autres de la garniture, par le fait qu'elle est la seule appartenant au type Pp. Cette paire est de plus la seule nucléolaire, d'accord avec la présence de satellites. Le nombre maximum de nucléoles est de deux.

Parmi les plantes normales, une a été trouvée montrant un hétérochromatinosone surnuméraire (Fernandes et Fernandes, 1946). Cet hétérochromatinosome (fig. 1, Pl. I), bien que beaucoup plus raccourci, se ressemble aux éléments de la paire nucléolaire et, pour cette raison, nous avons conclu qu'il s'agit d'un chromosome nucléolaire devenu hétérochromatique. La preuve de cette supposition a été obtenue par l'examen de nombreuses plaques équatoriales, puisque sur quelques-unes de ces figures nous avons constaté que l'hétérochromatinosome était pourvu d'un petit satellite accolé au corps chromosomique (fig. 2, Pl. I).

L'observation de milliers de noyaux interphasiques nous a montré que l'hétérochromatinosome est souvent visible sous la forme d'un chromocentre, qui peut se présenter compact ou plus ou mois désintegré (fig. 3, 4 et 5, Pl. I). Ce chromocentre

n'est jamais attaché à quelque nucléole, soit grand, soit petit (fig. 3, 4 et 5, Pl. I), ce qui révèle que l'hétérochromatinosome n'élabore pas de nucléole. Donc cette observation montre que chez cette plante l'hétérochromatinosome nucléolaire est complètement inactif en ce qui concerne la capacité de condenser la substance du nucléole.

2. *Narcissus Bulbocodium* L.

Sem. 135, Plante I.

Cette plante a été issue de la fécondation d'ovules d'un triploïde par le pollen d'un individu pourvu de deux hétérochromatinosomes (PP + Pp'). Les plaques équatoriales nous ont montré 16 chromosomes (fig. 6, Pl. I), dont les deux surnuméraires étaient hétérochromatiques. Un de ces hétérochromatinosomes correspond à un chromosome nucléolaire (Pp'), tandis que l'autre est un chromosome long du type Lp. Par le fait que l'individu pourvu de deux hétérochromatinosomes qui a été employé comme parent mâle a été récolté à l'état spontané, il n'est pas possible de savoir si l'hétérochromatinosome nucléolaire est le même qui existait dans cet individu, ou s'il a été engendré, dans le croisement, à partir d'un euchromatinosome appartenant soit au parent femelle, soit au parent mâle. En tout cas, l'origine est la même, c'est-à-dire qu'il a été engendré par l'hétérochromatinisation provoquée par l'action du gène H (v. Fernandes, 1949).

L'observation de nombreux noyaux interphasiques, en ce qui concerne le comportement du chromocentre correspondant à l'hétérochromatinosome nucléolaire (l'identification de ce chromocentre est rendu facile par le fait que l'hétérochromatinosome présente, le plus souvent, un aspect métaphasique à l'interphase et à l'état de repos), nous a montré le suivant :

a) Quelquefois, l'hétérochromatinosome n'est attaché à aucun nucléole, soit grand, soit petit, et il ne montre à l'extrémité du bras court aucune formation pouvant se considérer comme correspondant au satellite (fig. 7 et 8, Pl. I);

b) Le plus souvent, l'hétérochromatinosome n'est attaché à aucun nucléole et il présente à l'extrémité distale du bras

court une constriction dans la région de liaison entre le corps du chromosome et le satellite (fig. 9, Pl. I et fig. 1, Pl. II);

c) Quelquefois, l'hétérochromatinosome n'est attaché à aucun nucléole et il présente à l'extrémité distale du bras court un satellite relié au corps chromosomique par un court filament (fig. 2, Pl. II);

d) Rarement, l'hétérochromatinosome élabore un petit nucléole, qui demeure placé à l'endroit du filament existant entre le corps chromosomique et le satellite (fig. 3 et 4, Pl. II). Dans ces cas, le filament se montre presque toujours assez distendu (fig. 3 et 4, Pl. II). Quelquefois, probablement par suite de la fixation et des mouvements télophasiques, le nucléole s'écarte plus ou moins considérablement de cette position, de telle façon que, dans quelques cas, le filament demeure libre et seul le satellite est attaché au nucléole (fig. 5, Pl. II). Des cas ont été aussi observés où ni le filament ni le satellite étaient attachés au nucléole. Cependant, la relation de l'hétérochromatinosome avec le nucléole était évidente et ces images sont considérées comme des artifices engendrés par la fixation;

e) Quelquefois, l'hétérochromatinosome était attaché à un des deux nucléoles, tandis que, dans d'autres, il était attaché au nucléole unique (fig. 6, Pl. II). Ces images résultent de la fusion du petit nucléole, élaboré par l'hétérochromatinosome, avec un ou avec les deux nucléoles engendrés par les euchromatinosomes nucléolaires.

Le cycle prophasique de l'hétérochromatinosome, quand il élabore un nucléole, est semblable à celui des euchromatinosomes nucléolaires, puisqu'il demeure attaché au nucléole jusqu'à la dissolution de ce corps.

Sem. 117, Plante III.

Cette plante a été issue de la fécondation des ovules d'un triploïde par le pollen d'un individu pourvu d'un hétérochromatinosome long du type Lp_3. La plante possède 18 chromosomes (fig. 7, Pl. III). Tous les 4 chromosomes surnuméraires sont des hétérochromatinosomes: un long du type Lp, et 3 petits, dont deux du type PP et un autre du type Pp'. Ce dernier correspond au chromosome nucléolaire qui, dans ce cas, a été sans aucun doute engendré, par suite de ce croisement, à

partir d'un des euchromatinosomes nucléolaires provenant soit du triploïde, soit du diploïde, par le processus de l'hétérochromatinisation, puisque le parent mâle était pourvu seulement d'un hétérochromatinosome du type Lp_3.

Le comportement de l'hétérochromatinosome nucléolaire chez cette plante est tout à fait semblable à celui que nous avons rapporté pour la Sem. 135, Plante I. En effet, nous avons constaté que, le plus souvent, il n'élabore pas de nucléole (fig. 8, Pl. II); que, dans quelques cas, il condense un petit nucléole auquel il demeure attaché (fig. 9, Pl. II et fig. 1, Pl. III); et que, quelquefois, il est attaché à un des deux nucléoles (fig. 2, Pl. III) ou au nucléole unique existant dans le noyau (fig. 3, Pl. III).

Sem. 116, Plante VIII.

Cette plante a été issue d'un croisement semblable à celui qui a engendré la plante précédente. Le parent mâle a été le même, tandis que les ovules appartenaient à un autre individu triploïde du même clone. La plante possédait 21 chromosomes (fig. 4 et 5, Pl. III), ce qui peut amener à penser qu'elle a été engendrée au moyen de la fécondation d'un gamète femelle à 14 chromosomes par un gamète mâle normal.

L'étude des chromosomes surnuméraires nous a permis d'identifier les types suivants: 4 Lp + 2 PP + 1 Pp, ce qui semble correspondre à une garniture haploïde. Cependant, par le fait qu'il est extrêmement difficile de distinguer, sur des figures à nombreux chromosomes, les types Lp_1, Lp_2, Lp_3 et lm, rassemblés ici sous le symbole Lp, nous n'avons pas réussi à établir si en réalité les 4 chromosomes Lp correspondent à tous ceux de la garniture haploïde, ou s'il y a, parmi eux, un chromosome répété d'un certain type et absence d'autre chromosome d'un autre type. Étant donné que le parent mâle était pourvu d'un hétérochromatinosome surnuméraire Lp_3, nous croyons plutôt que la plante a été issue de la fécondation d'un ovule à 13 chromosomes par un grain de pollen à 8 chromosomes, dont le surnuméraire serait l'hétérochromatinosome Lp_3. Une plante ayant une telle origine serait un triploïde déséquilibré, non seulement par le fait que parmi les chromosomes surnuméraires pourraient exister deux du type Lp_3 et y avoir manque

d'un chromosome de quelqu'un des autres types, soit Lp_1, soit Lp_2, soit lm, mais encore par le fait que l'hétérochromatinisation est, comme nous l'avons montré (FERNANDES, 1949), irréversible (la présence d'un hétérochromatinosome Lp_3 ne pourra pas substituer la présence du surnuméraire euchromatique correspondant). D'accord avec l'hypothèse du déséquilibre, nous avons constaté que tous les 7 chromosomes surnuméraires ont été rendus hétérochromatiques.

En ce qui concerne l'hétérochromatinosome nucléolaire, nous avons constaté qu'il se comporte comme chez les plantes antérieures, c'est-à-dire qu'il peut quelquefois condenser un petit nucléole (fig. 7, Pl. III). Rarement, nous avons constaté aussi que, n'ayant élaboré aucun nucléole visible, il se présente pourvu de satellite séparé du corps chromosomique (fig. 6, Pl. III).

Sem. 118, Plante V.

L'origine de cette plante est semblable à celle de la précédente, c'est-à-dire qu'elle a été engendrée au moyen de la fécondation d'un ovule d'un triploïde, appartenant au même clone, par le pollen d'un diploïde pourvu d'un hétérochromatinosome surnuméraire Lp_3.

L'individu présente 20 chromosomes (fig. 8, Pl. III) dont 3 surnuméraires longs Lp et 3 courts, parmi lesquels se trouve, évidemment, le chromosome nucléolaire. Tous les 6 chromosomes surnuméraires se présentent hétérochromatiques et, par ce fait, les noyaux interphasiques montrent 6 chromocentres dans les cas les plus favorables. Bien que, parmi ces chromocentres, celui correspondant à l'hétérochromatinosome nucléolaire y existe, nous n'avons jamais mis en évidence l'existence de quelque petit nucléole attaché à ce chromocentre (fig. 9, Pl. III). Nous n'avons aussi jamais constaté l'attachement de quelque chromocentre aux nucléoles élaborés par les chromosomes nucléolaires euchromatiques (fig. 2, 3 et 4, Pl. IV). On devra conclure donc que chez cette plante l'hétérochromatinosome nucléolaire n'élabore jamais de nucléole. Le nombre primaire de nucléoles est de deux (fig. 1, Pl. IV), élaborés par les euchromatinosomes nucléolaires. Étant donné le nombre relativement élevé de chromocentres, l'hétérochromatinosome nucléolaire n'a été identifié que peu de fois. Pour cette raison,

il ne nous a pas été possible d'étudier en détail le comportement du chromocentre en ce qui concerne l'apparition ou non apparition de satellite. Dans les cas où l'hétérochromatinosome a été identifié, il montrait le satellite accolé au corps chromosomique (fig. 9, Pl. III).

Sem. 119, Plante IV.

Bien qu'issue d'un autre individu triploïde (tous ces individus appartenaient au même clone) ayant fonctionné de femelle, cette plante présentait une constitution chromosomique semblable à celle de la plante précédente (fig. 5, Pl. IV). Comme dans la plante antérieure, nous avons constaté que l'hétérochromatinosome nucléolaire n'élabore pas de nucléole. Pour cette raison, aucun chromocentre ne s'attache au nucléole unique (fig. 6, Pl. IV) ou aux deux nucléoles.

DISCUSSION

Nos observations montrent, en toute évidence, que le processus d'hétérochromatinisation, c'est-à-dire la conversion de l'euchromatine en hétérochromatine (FERNANDES, 1943, 1949), rend les chromosomes nucléolaires inactifs ou moins actifs en ce qui concerne leur capacité de condensation du nucléole. Étant donné que les plantes à hétérochromatinosomes nucléolaires inactifs possèdent une garniture diploïde euchromatique complète, l'inactivation des chromosomes nucléolaires par suite de l'hétérochromatinisation signifie, en opposition au point de vue de RESENDE (1938, *l. c.*), que les zones de condensation du nucléole travaillent d'une façon active et, par conséquent, qu'il y a dans ces zones « quelque chose » qu'engendre le nucléole. À ce « quelque chose », dont la vraie nature sera précisée plus loin, nous pourrons appeler, d'accord avec MCCLINTOCK, DARLINGTON, KLINGSTEDT, etc., organisateur du nucléole.

Nos recherches montrent de plus que, sous l'influence de l'hétérochromatinisation, les organisateurs du nucléole peuvent subir soit une inactivation totale (*Narcissus asturiensis*; Sem. 118, Plante V; et Sem. 119, Plante IV), soit partielle (Sem. 135, Plante I; Sem. 117, Plante III; et Sem. 116, Plante VIII). Trois

hypothèses pourront être formulées pour donner compte de ces faits :

a) Dans un travail antérieur (Fernandes, 1949), nous avons montré, par l'analyse des résultats de certains croisements entre des plantes diploïdes et triploïdes, que chez *N. Bulbocodium* L. l'hétérochromatinisation des chromosomes surnuméraires est provoquée par l'action d'un gène dominant, H, existant chez quelques individus de certaines populations. Étant données les hybridations effectuées (v. Fernandes, 1949), les plantes de *N. Bulbocodium* L. étudiées dans le présent travail peuvent avoir soit la constitution génétique Hh, soit Hhh. Nous supposons donc que les plantes où l'inactivation a été totale (hétérochromatinisation totale) auront la constitution Hh, tandis que les autres, où l'inactivation a été partielle (hétérochromatinisation partielle), auront la constitution Hhh. Le gène H dominerait complètement 1 h, mais sa dominance ne serait pas complète vis-à-vis 2 h. De cette façon, chez les plantes Hhh, l'organisateur du nucléole de l'hétérochromatinosome pourrait ne pas fonctionner ou fonctionner peu intensément d'après les conditions du milieu et l'état physiologique des cellules.

b) Dans le travail ci-dessus mentionné (Fernandes, 1949), nous avons été amenés à conclure que le gène H peut n'avoir pas toujours la même valence, mais qu'il en aura des gènes forts, intermédiaires et faibles. D'accord avec ce point de vue, nous pourrions supposer que toutes les plantes étudiées seraient des hétérozygotes Hh. Les plantes où l'inactivation est totale posséderaient un gène H fort, tandis qu'il serait faible dans les autres individus.

c) Étant donnée la compétition entre les organisateurs (v. McClintock, 1934; Darlington, 1937), nous pourrions supposer que les chromosomes nucléolaires euchromatiques posséderaient des organisateurs plus actifs chez les plantes où l'inactivation est totale que chez les plantes où l'inactivation est partielle. D'accord avec cette hypothèse, il n'y aurait d'inactivation totale dans aucun cas. Les organisateurs des hétérochromatinosomes seraient seulement affaiblis et dans certains cas, en présence d'organisateurs normaux plus actifs, ils n'auraient pas la chance de condenser la substance nucléolaire.

La première hypothèse nous semble la plus probable, puis-

que les deux autres ne s'accordent pas avec les faits. Ainsi, d'après les hybridations effectuées, on constate que les individus Sem. 118, Plante V et Sem. 119, Plante IV, où l'inactivation est totale, possèdent le même gène H et les mêmes organisateurs nucléolaires normaux que les individus Sem. 117, Plante III et Sem. 116, Plante VIII, où l'inactivation n'est que partielle. Si quelqu'une des deux dernières hypothèses en était exacte, toutes ces plantes devraient présenter un comportement analogue, ce qui n'arrive point.

Tous les auteurs sont d'accord en considérer l'hétérochromatine comme inerte (notre hétérochromatinisation totale) ou comme possédant une faible activité (notre hétérochromatinisation partielle) génique (v. RESENDE, 1945; DARLINGTON, 1947; FERNANDES, 1949). D'autre part, comme nous l'avons montré (FERNANDES, 1949), l'hétérochromatine n'est que de l'euchromatine rendue complètement ou partiellement inactive. Étant donné que ce qui subi l'inactivation par suite du processus de l'hétérochromatinisation sont les gènes, nous sommes amenés à conclure que les organisateurs du nucléole sont, comme DARLINGTON (1942, 1947) le suppose, des gènes, puisqu'ils se comportent d'une façon identique à ces entités sous l'influence de l'hétérochromatinisation. Nous pourrons dire de plus que ces gènes sont localisés dans les zones nucléolaires eux-mêmes. En effet, si la condensation du nucléole fusse contrôlée seulement par des gènes localisés dans d'autres régions des chromosomes de la garniture, soit nucléolaires, soit non-nucléolaires, et si les zones nucléolaires ne fussent pas actives dans cette condensation, ces zones devraient, dans notre matériel, élaborer toujours des nucléoles, puisqu'il existe chez toutes les plantes une garniture chromosomique diploïde normale, et, par conséquent, tous les gènes nécessaires au fonctionnement des zones nucléolaires ([1]). De cette façon, nous ne pourrons pas partager l'opinion de RESENDE (1938, *l. c.*), lorsqu'il considère ces zones comme passives et les gènes localisés dans le bras long du

(1) L'observation de plantes à euchromatinosomes surnuméraires, correspondant aux hétérochromatinosomes existant dans les individus étudiés, nous a montré que ces plantes possèdent le nombre maximum de 3 nucléoles également développés.

chromosome 9 de *Zea Mays* comme les seules entités responsables pour la physiologie de la condensation nucléolaire.

Comme il est bien connu, les gènes n'agissent pas indépendamment les uns des autres, mais ils peuvent s'influencer mutuellement des façons les plus diverses. On peut donc concevoir que l'activité de l'organisateur nucléolaire de *Zea Mays* puisse être influencée par un gène ou par certains gènes existant dans le bras le plus long du chromosome 9 et que le manque de ce ou de ces gènes, dans une garniture déficiente, puisse être le responsable des irrégularités de la condensation nucléolaire observées dans le cas de la combinaison IV (v. McClintock, 1934; Resende, 1938).

Étant donné que les organisateurs du nucléole sont des gènes localisés dans les régions où se condensent les nucléoles, nous sommes amenés à conclure, en admettant que les chromomères ont une existence réelle et qu'ils correspondent à des gènes ou à des agrégats de gènes, que la conception de Darlington (1942), selon laquelle l'organisateur du nucléole doit être envisagé comme « one or more particular chromomeres,..., which are again compound genes breakable by X-rays and may be either at the ends or in the middle, either in a heterochromatic or a euchromatic part of the chromosome » (v. aussi les diagrammes des fig. 1 et 2 du travail de Darlington), nous semble la plus proche de la vérité d'après nos connaissances actuelles, puisqu'elle s'harmonise entièremente avec nos observations.

McClintock (1934) décrit le « nucleolar-organizing-body» de *Zea Mays* comme étant un corpuscule assez gros, morphologiquement distinct et intensément colorable par le carmin-acétique (pycnotic). D'après ces caractères, il semble qu'il s'agit d'un corps hétérochromatique (v. Lorbeer, 1934; Heitz, 1935; Resende, 1938). S'il en est ainsi, le corps décrit par McClintock ne peut pas être l'organisateur nucléolaire, puisque nos observations montrent que l'hétérochromatinisation, agissant sur les chromosomes nucléolaires, rend leurs organisateurs complètement ou partiellemeut inactifs et, par conséquent, *que l'organisateur est euchromatique*. De cette façon, dans le cas du « nucleolar-organizing-body » de McClintock être hétérochromatique, comme il est très probable, il devra exister chez *Zea Mays*, vraisemblablement dans la région du filament satellitifère adja-

cente au corps hétérochromatique, un chromomère (ou chromomères) euchromatique qui sera le véritable organisateur.

Nous pourrions supposer que le « nucleolar-organizing-body » n'est pas hétérochromatique, mais qu'il correspond à un chromomère très volumineux ou plutôt à plusieurs chromomères euchromatiques situés très proches les uns des autres, en donnant à l'ensemble l'aspect d'un corps hétérochromatique. De nouvelles recherches sont nécessaires pour éclaircir ce point.

La conception de KLINGSTEDT (1941) ne s'harmonise pas aussi avec les faits, puisque, comme nous l'avons signalé ci-dessus, l'organisateur nucléolaire ne peut pas être hétérochromatique.

Il serait très important de décider si l'organisateur du nucléole se compose d'un seul chromomère, ou s'il en est composé d'un nombre supérieur. Le problème pourra peut-être se résoudre par l'étude de translocations affectant la zone nucléolaire. En soumettant des plantes de *Zea Mays* à l'action des rayons X, McCLINTOCK (1934) a réussi à obtenir une double translocation entre les chromosomes 6 et 9 de la garniture normale. Une des ruptures a eu lieu dans la zone nucléolaire et les chromosomes résultants, 9^6 et 6^9, ont, tous les deux, la capacité de condenser des nucléoles. Ce fait semble montrer que l'organisateur (cet élément ne sera peut-être pas le corps probablement hétérochromatique décrit par McCLINTOCK, mais l'élément dont nous avons ci-dessus admis l'existence) devra être constitué par un nombre de chromomères supérieur à un. Cette preuve, cependant, n'est pas concluante, puisqu'il pourrait arriver que la rupture ait affectée le seul chromomère correspondant à l'organisateur.

Étant donnée la difficulté de délimiter la zone nucléolaire (RESENDE et RIJO, 1948) et le fait que des chromomères qui n'appartiennent pas normalement à cette région pourront y apparaître dans quelques cas (voir plus loin), il sera très difficile, même par l'étude de translocations, d'établir le nombre de chromomères composant les organisateurs nucléolaires.

L'étude de la structure des hétérochromatinosomes nucléolaires au pachytène pourra, peut-être, nous apporter quelque aide dans la solution de ce problème, puisque, comme ils ne condensent pas de nucléole le plus souvent, il n'y aura pas, dans ces

cas, les perturbations introduites par l'action du développement du nucléole.

L'organisateur nucléolaire présente certaines analogies avec le centromère, puisqu'ils sont tous les deux des gènes actifs pendant le cycle mitotique et ils n'attachent pas la substance de la matrix. L'étude de la structure de la région centromérique a montré à Lima-de-Faria (1949, 1950) que le centromère se compose tout au moins de deux chromomères. Ce fait pourra peut-être être considéré comme indicatif de que l'organisateur du nucléole se compose d'un nombre de chromomères supérieur à un. Le phénomène de la variation de la taille des satellites dans les différentes cellules d'un même individu, signalé par quelques auteurs (Geitler, 1929; Smith, 1933; McClintock, 1934; Fernandes, 1935, 1936; Satô, 1937; Sinotô, 1937), pourra aussi parler dans le sens que l'organisateur n'est pas constitué par un seul chromomère (voir plus loin).

Il pourra aussi arriver que chez quelques plantes l'organisateur soit constitué par un seul chromomère, tandis que chez d'autres il sera constitué par un nombre supérieur. Ce point de vue nous semble le plus vraisemblable.

D'après McClintock (1934), l'organisateur est le seul élément actif dans l'accumulation de la matière nucléolaire, le filament adjacent n'étant qu'une formation secondaire, développée à la télophase par suite de la croissance du nucléole. Resende (1938, 1939), par contre, n'admettant pas l'existence d'organisateur, considère, d'accord avec Heitz (1935), le filament (= constriction secondaire nucléolaire, SAT-filament, SAT-zone, zone nucléolaire, région nucléologénique, olisthérozone nucléolaire, etc.) comme une formation primaire — « *a cellphysiological differentiation of the chromosomes* » (Resende, 1939, pag. 313) — jouant elle-même le rôle de la condensation nucléolaire. Nos observations semblent jeter quelque lumière sur cette question.

L'étude soigneuse des noyaux interphasiques nous a montré que, lorsque l'hétérochromatinosome ne fonctionne pas, le satellite devient invisible dans quelques cas. À notre avis, cette invisibilité n'est pas réelle, mais elle résulte soit de la difficulté d'observation, soit de quelque artifice de fixation qui fusionne le satellite avec le corps du chromosome. Plus souvent, le satellite est visible et il demeure accolé au corps chromosomi-

que, la région de contact étant signalée par une constriction [1]. Quelquefois, finalement, la constriction est plus marquée et on peut observer un filament reliant le corps chromosomique au satellite. Ces dernières images pourront être interprétées des trois façons suivantes :

a) Les hétérochromatinosomes ont élaboré des nucléoles extrêmement petits, ne pouvant pas se mettre facilement en évidence, qui ont amené la séparation des satellites ;

b) La zone nucléolaire n'a condensé aucune substance nucléolaire, mais la région distale du bras qui porte le satellite a subi une certaine despiralisation à la télophase (v. FERNANDES, 1939; FERNANDES et SERRA, 1944), qui a amené aussi la séparation des satellites ;

c) Ces aspects sont les seuls qui correspondent à des images réelles, tandis que les autres sont engendrées à partir de celles-ci, par suite de la rétraction du filament provoquée par la fixation.

Il est très difficile de décider parmi ces trois possibilités. Quoi qu'il en soit, les observations montrent que la constriction est une formation primaire, en faisant partie de la structure du chromosome. Son existence dans les hétérochromatinosomes est tout à fait compréhensible. En effet, sur le chromonème des euchromatinosomes, il y aura, à un certain endroit, le chromomère (ou les chromomères) organisateur du nucléole. Cet organisateur condensera normalement la substance nucléolaire, mais il n'est pas susceptible d'attacher la substance de la matrix. Lorsque l'organisateur est devenu hétérochromatique, il n'attachera ni la substance nucléolaire, ni celle de la matrix et, pour cette raison, une région dépourvue de matrix, c'est-à-dire une constriction, fera son apparition.

La conception de RESENDE (1938, 1939) est donc correcte en ce qui concerne la nature primaire de la constriction nucléolaire. Cependant, le rôle de la condensation du nucléole devra être attribué à l'organisateur, qui devra être localisé dans cette constriction.

---

(1) Nous croyons que, dans les cas d'amphiplastie (NAWASCHIN, 1934), le satellite ne disparaît pas, mais qu'il demeure accolé au corps chromosomique, duquel il est séparé par une constriction, tout à fait comme il arrive chez l'hétérochromatinosome nucléolaire de notre matériel.

Nos observations montrent de plus que, lorsque l'hétérochromatinosome élabore un nucléole, la longueur du filament satellitifère s'accroît considérablement. Cette particularité et le fait de l'apparition, chez *Zea Mays*, d'une constriction nucléolaire de nouvelle formation dans le chromosome 6^9 (McClintock, *l. c.*, fig. 2, pag. 297 et fig. 11, pag. 303) nous portent à croire, d'accord avec McClintock, que la constriction peut être plus ou moins distendue par l'action du développement du nucléole et, par conséquent, que la formation de ce corps peut influencer l'aspect de la zone nucléolaire.

À notre avis, les figures publiées par Resende (1940) et par Resende et ses collaborateurs (v. particulièrement Resende et Rijo, 1948), traduisant ce qui ces auteurs appèlent la labilité des olisthérozones, pourront s'expliquer par l'action secondaire exercée sur ces zones par le développement du nucléole, agissant conjointement avec les difficultés de spiralisation (cf. Mensinkai, 1939) éprouvées par les chromosomes nucléolaires pendant la prophase, par suite de l'attachement du nucléole.

Ainsi, en admettant que l'organisateur se compose d'un seul chromomère, nous pourrons supposer que la substance nucléolaire se dépose seulement dans la région comprise entre le chromomère organisateur et le chromomère suivant, l'organisateur demeurant adjacent au corps chromosomique. Dans ce cas, les fibrilles reliant ces deux chromomères seraient distendues par l'action du développement du nucléole et le filament résultant sera complètement achromatique, ne révélant pas de l'existence d'acide thymonucléique.

Cependant, il pourra arriver que la condensation du nucléole ait lieu d'un et d'autre côté de l'organisateur. Dans ce cas, la zone nucléolaire résultante sera constituée par les fibrilles interchromomériques localisées de part et d'autre de l'organisateur et elle montrera un chromomère se colorant au Feulgen (cf. Resende et Rijo, 1948).

Comme il est bien connu, le chromonème se déroule à la télophase. Nous pourrons supposer que, par suite de cette despiralisation, la matière nucléolaire se répand dans quelques cas sur le chromonème des régions adjacentes de l'organisateur. Le dépôt de cette substance et son attachement au chromosome pourront plus tard gêner la spiralisation prophasique de

ces régions, et des zones plus ou moins étendues pourront apparaître moins spiralisées à la métaphase. Dans ces cas, la zone nucléolaire demeurera avec une structure chromomérique et elle se colorera au Feulgen.

Si nous admettons que l'organisateur nucléolaire se compose de plusieurs chromomères, et que les choses ont lieu selon la façon décrite, les zones nucléolaires résultantes pourront montrer des aspects extrêmement variables. Quelquefois, elles pourront être achromatiques, mais le plus souvent elles montreront une structure chromomérique.

Il est évident que l'état physiologique des cellules au moment de la fixation pourra, d'accord avec Resende (1940), influencer aussi l'aspect de la zone nucléolaire. Cependant, nous croyons que les autres facteurs auront une influence supérieure à celle-ci en ce qui concerne la naissance de la diversité des images observées.

En supposant, dans le cas des chromosomes satellitifères, que l'organisateur ne se compose que d'un seul chromomère, nous pourrons admettre que le nucléole se développe entre l'organisateur et le satellite. Dans ce cas, l'organisateur demeurera adjacent au corps chromosomique et le satellite aura une certaine taille. Cependant, si le nucléole se condense entre le corps chromosomique et l'organisateur, ceci pourra demeurer adjacent au satellite, et, dans ce cas, celui-ci présentera une taille plus grande. Si nous admettons que l'organisateur se compose de plusieurs chromomères, une variation plus grande de la taille des satellites pourra avoir lieu. De cette façon, tant l'hypothèse de l'existence d'organisateurs à un seul chromomère comme celle de l'existence d'organisateurs à plusieurs chromomères, nous donnent l'explication de la variation de la taille des satellites qui a été constatée par certains auteurs dans les différentes cellules d'un même individu (Geitler, 1929; Smith, 1933; McClintock, 1934; Fernandes, 1935, 1936; Satô, 1937; Sinotô, 1937). La première hypothèse ne peut qu'expliquer une petite variation, tandis que la deuxième nous permet expliquer une variation comprise entre des limites plus larges.

La question du nombre de chromomères qui composent l'organisateur ne pourra pas se résoudre facilement par l'étude de la variation de la taille des satellites, par le fait qu'une

variation analogue peut aussi être provoquée par des petites translocations, comme cela arrive chez *Narcissus triandrus* et *N. reflexus* (v. Fernandes, 1935, 1936; Resende, 1937), où la variation de la taille, tout au moins en ce qui concerne les satellites plus volumineux, ne peut pas s'expliquer seulement par l'action de la croissance du nucléole.

Nos observations ne nous permettent pas dire si la zone nucléolaire possède ou non une structure spirale. Les images interphasiques de l'hétérochromatinosome nucléolaire, montrant le satellite soit accolé, soit détaché du corps chromosomique et pouvant facilement s'expliquer par l'enroulement et le déroulement du chromonème, semblent s'accorder avec les points de vue de Resende (1940) et Therman-Suomalainen (1948, 1949). Le fait que, lorsque l'hétérochromatinosome condense un nucléole, le filament devient en général d'une longueur considérable (fig. 3, 4 et 5, Pl. II), peut-être supérieure à celle qu'on devrait s'attendre à voir apparaître si le filament en était engendré par la distension de fibrilles non enroulées, semble aussi parler en faveur de la capacité qui ont les zones nucléolaires de subir la spiralisation et la despiralisation.

S'il en est ainsi, nous devrons considérer la spiralisation et l'attachement de l'acide thymonucléique de la matrix comme des phénomènes qui marchent parallèlement, mais qui sont indépendants, par le fait que la zone nucléolaire n'attache pas la substance de la matrix. Cependant, la relation de cause et d'effet en ce qui concerne l'attachement et le détachement de l'acide thymonucléique et la spiralisation et la despiralisation nous semble très probable. À notre avis, les phénomènes pourront, peut-être, s'expliquer de la façon suivante: Il y en aura, à un certain endroit du chromonème, le chromomère (ou chromomères) organisateur du nucléole. Ce chromomère avec les régions adjacentes de part et d'autre constitueront la vraie zone nucléolaire qui, d'accord avec Darlington (1937), ne subira pas la spiralisation. Par suite de la croissance du nucléole, les régions adjacentes de la vraie zone nucléolaire pourriont se dérouler hors mesure, en même temps que l'attachement du nucléole pourrait gêner la spiralisation prophasique. Ce seraient ces régions qui, en attachant l'acide thymonucléique de la matrix,

montreraient la structure spirale et présenteraient des phénomènes de spiralisation et de despiralisation.

On constate que, le plus souvent, les organisateurs sont situés vers les extrémités des bras des chromosomes. À notre avis, cette position correspond à celle où les nucléoles gêneront de moins le cycle mitotique des chromosomes qui les portent. On comprend donc que la sélection naturelle ait favorisé ces plantes et qu'elles soient à présent en nombre très élevé.

On constate aussi que les organisateurs nucléolaires se trouvent assez souvent intercalés dans des régions hétérochromatiques (v. FERNANDES, 1936), fait qui est sans doute le responsable des spéculations qui ont été formulées à l'égard de la relation entre hétérochromatine et nucléoles. À notre avis, l'hétérochromatine située de part et d'autre de l'organisateur nucléolaire doit être considérée, par le fait qu'elle ne se despiralise pas, une défense contre les perturbations que la croissance et l'attachement du nucléole peuvent provoquer sur le cycle mitotique des chromosomes qui les portent. Ces plantes seraient aussi favorisées par la sélection naturelle.

RESENDE, LEMOS-PEREIRA et CABRAL (1944) ont été amenés à concevoir que les zones nucléolaires doivent être constituées par une chromatine spéciale, qui, par suite de sa labilité, est, comme nous l'avons remarqué, appelée olisthérochromatine nucléolaire. RESENDE et RIJO (1948), tout en signalant que l'olisthérochromatine nucléolaire possède dans les noyaux au repos un comportement semblable à celui de l'hétérochromatine (la différence consistant dans le fait que le chromonème de l'hétérochromatine demeure recouvert de matrix, tandis que le chromonème de l'olisthérochromatine nucléolaire demeure recouvert de substance nucléolaire), sont portés à croire « *that the genetic activity of this chromatin* (l'olisthérochromatine nucléolaire) *is nil, or at least very weak* » (RESENDE et RIJO, *l. c.*, pag. 137).

Nos recherches montrent que l'organisation du nucléole est due à l'action de gènes actifs localisés dans les zones nucléolaires. De cette façon, la conclusion de RESENDE et RIJO (*l. c.*) n'est pas d'accord avec les faits et elle ne pourra pas être soutenue.

La chromatine des zones nucléolaires est une chromatine génétiquement active et, par conséquent, elle possède les carac-

tères généraux de l'euchromatine. Cependant, elle diffère de l'euchromatine typique par le fait qu'elle est active pendant la mitose, particulièremente à la télophase, durant la période de la condensation du nucléole ([1]). De plus, elle s'écarte de l'euchromatine typique par le fait que celle-ci attache la substance de la matrix, tandis que la chromatine nucléolaire attache la matière du nucléole. De cette façon et étant donné de plus que la chromatine nucléolaire se comporte vis-à-vis de l'hétéromatinisation comme l'euchromatine typique, nous sommes portés à conclure que la chromatine nucléolaire est une euchromatine spéciale qui peut être appellée *euchromatine nucléolaire* ([2]). Cette expression nous semble plus adéquate que celle de Resende, Lemos-Pereira et Cabral (1944), puisque nous croyons préférable grouper sous la même désignation — *euchromatine* — toutes les chromatines actives existantes. D'autre part, bien que l'expression olisthérochromatine nucléolaire traduise la labilité de cette chromatine, le mot semble montrer qu'il ne s'agit pas d'une euchromatine. De plus, en rapprochant l'olisthérochromatine nucléolaire de l'hétérochromatine, la définition d'olisthérochromatine qu'on peut déduire du travail de Resende et Rijo (*l. c.*) ne s'accorde pas avec les faits. L'euchromatine nucléolaire peut se définir de la façon suivante: *une chromatine active pendant la mitose, particulièrement à la télophase, qui attache la substance du nucléole et qui n'attache pas la substance de la matrix.*

Comme on le sait, le chromonème de l'hétérochromatine peut demeurer plus ou moins recouvert par la substance de la matrix pendant la mitose et à l'état de repos (v. Fernandes, 1939, 1949; Fernandes et Serra, 1944). On pourra donc poser les deux questions suivantes: Est-ce que l'inertie génique de l'hétérochromatine résulte du fait que la matrix ne quitte pas le chromosome, en impossibilitant la diffusion des produits des gènes? Est-ce que, par contre, la matrix ne quitte pas le chro-

([1]) Nous ne savons pas encore si les gènes de la chromatine des zones nucléolaires auront quelque interférence dans la dissolution du nucléole. S'il en était ainsi, ils seraient aussi actifs pendant la prophase.

([2]) La chromatine de la région centromérique, qui est aussi active pendant la mitose et qui n'attache ni de la substance de la matrix, ni de la substance nucléolaire, pourra être appellée *euchromatine centromérique*.

monème par le fait que les gènes, n'étant pas actifs, n'élaborent pas leurs produits ?

Nos observations montrent que, dans les cas d'hétérochromatinisation totale, l'hétérochromatine des zones nucléolaires n'attache ni la substance nucléolaire, ni celle de la matrix. De cette façon, cette hétérochromatine demeure sans être recouverte de matrix, mais, malgré cela, leurs gènes sont inactifs. D'après ce raisonnement, nous sommes portés à répondre affirmativement à la deuxième question, c'est-à-dire que, dans les cas d'hétérochromatinisation totale, les gènes n'élaborent pas leurs produits.

Comme nous l'avons signalé, l'organisateur nucléolaire possède quelques analogies avec le centromère, puisqu'ils sont tous les deux actifs pendant la mitose et ils n'attachent pas la substance de la matrix. Les recherches de LIMA-DE-FARIA (1950) montrent que les chromomères du centromère possèdent de l'acide thymonucléique. Étant donnée l'analogie signalée et que l'acide thymonucléique semble être indispensable à la reproduction des gènes, nous croyons que le chromomère ou chromomères des organisateurs nucléolaires auront aussi de l'acide thymonucléique. Donc nous ne pourrons pas être d'accord avec RESENDE (1946 *b*), lorsque cet auteur admet que la zone nucléolaire devra être chimiquement identique au nucléole (*l. c.*, p. 267). Les observations de REZENDE-PINTO (1946), tout en montrant qu'une réaction différentielle du nucléole n'est pas positive dans les zones nucléolaires, semblent parler dans le même sens.

En ce qui concerne la composition histo-chimique de la zone nucléolaire, nous croyons que le point de vue le plus probable est le suivant: Dans les cas où cette zone est seulement constituée par les fibrilles du chromonème distendues, elle aura la constitution des fibrilles, c'est-à-dire elle se composera de protéines élevées du type globuline (v. DARLINGTON, 1942; SERRA, 1949). Dans les cas où des chromomères demeurent dans la zone, celle-ci aura la constitution du chromonème lui-même, c'est-à-dire protéines du type globuline dans les régions interchromomériques distendues et acide thymonucléique + histones dans les chromomères (v. DARLINGTON, 1942; SERRA, 1949). Cependant, ces chromomères, correspondant aux gènes nucléolaires,

devront avoir une constitution chimique spéciale, comme d'ailleurs tous les chromomères correspondant à des gènes différents seront chimiquement différents aussi. Tous les chromomères de l'euchromatine typique possèdent la capacité d'attacher la substance de la matrix, tandis que les chromomères nucléolaires condensent la matière du nucléole. Pour cette raison, il est probable que les chromomères nucléolaires seront chimiquement plus différents de ceux de l'euchromatine typique que ceux-ci seront différents les uns des autres.

D'après Heitz et Resende (in Resende, 1938, 1946 *b*), la substance prénucléolaire issue des chromosomes sous la forme de gouttes est chimiquement transformée en substance nucléolaire dans les zones nucléolaires. Bien que la démonstration de que les deux substances sont chimiquement différentes n'a pas encore été faite, nous considérons très probable ce point de vue. En effet, étant donné que les organisateurs du nucléole sont des gènes et que ceux-ci élaborent des produits spécifiques qui déclenchent certaines réactions, il est très vraisemblable que les organisateurs engendreront un certain produit qui réagira avec la substance prénucléolaire, en la transformant en matière nucléolaire, en même temps que cette matière se condensera au contact de l'organisateur.

Dans un travail antérieur (Fernandes, 1949), nous avons démontré que les hétérochromatinosomes ne sont que des euchromatinosomes rendus inactifs ou presque. Par le fait que les gènes sont les mêmes dans les deux types de chromosomes, nous avons été amenés à conclure que, dans les cas où l'inactivité n'est pas totale, les gènes continueront à engendrer les mêmes produits spécifiques que lorsqu'ils se trouvaient à l'état euchromatique. La différence consistera seulement dans les plus petites quantités de ces substances (Fernandes, 1949, pag. 55). Nos observations actuelles confirment entièrement cette conclusion, puisque, dans les cas d'hétérochromatinisation partielle, les gènes nucléolaires continuent à condenser la substance nucléolaire, bien qu'ils engendrent des nucléoles beaucoup plus petits que ceux élaborés par les gènes de l'euchromatine.

Nos observations montrent que, lorsque les organisateurs du nucléole sont rendus inactifs par suite du processus de l'hétérochromatinisation, l'emplacement des organisateurs de-

meure marqué par une constriction, où aucun nucléole se condense. Ces constrictions ont les caractères des constrictions secondaires anucléolaires (= olisthérozones anucléolaires de RESENDE et ses collaborateus) et, pour cette raison, nous sommes amenés à suggérer que ces constrictions pourraient, en réalité, correspondre à des anciennes zones nucléolaires dont les organisateurs ont été rendus inactifs par suite d'hétérochromatinisation. La chromatine de ces zones serait donc de l'hétérochromatine.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

1. Sous l'influence de l'hétérochromatinisation, provoquée chez les espèces du genre *Narcissus* par l'action d'un gène dominant (il pourra arriver que chez d'autres plantes le même phénomène soit dû à un système de gènes — cf. SERRA, 1949), les chromosomes nucléolaires sont rendus inactifs ou moins actifs en ce qui concerne leur capacité d'élaboration du nucléole.

2. Les zones nucléolaires travaillent d'une façon active en ce qui concerne la condensation du nucléole. Il y a donc dans ces zones un organisateur du nucléole.

3. L'inactivation totale ou partielle de l'organisateur résulte de la constitution génétique des plantes. L'inactivation est totale chez les plantes Hh et partielle chez les plantes Hhh.

4. Par le fait que sont les gènes qui sont rendus inactifs ou moins actifs sous l'action de l'hétérochromatinisation, les organisateurs du nucléole sont des gènes.

5. Les gènes nucléolaires (organisateurs) sont localisés dans les zones nucléolaires et non à d'autres endroits des chromosomes de la garniture. Cependant, comme il est évident, le fonctionnement des organisateurs nucléolaires peut être sous la dépendance d'autres gènes, localisés à n'importe d'autres régions des chromosomes des garnitures.

6. La conception de DARLINGTON (1942), selon laquelle l'organisateur du nucléole doit être envisagé comme « one or more particular chromomeres, the nucleolar organizers, which are again compound genes breakable by X-rays and may be either at the ends or in the middle, either in a heterochromatic

or a euchromatic part of the chromosome », nous semble la plus proche de la vérité d'après nos connaissances actuelles.

7. L'organisateur du nucléole se compose d'un ou probablement de plusieurs gènes actifs. Il est donc euchromatique à l'état fonctionnel. De cette façon, si le « nucleolar-organizing-body » décrit par McClintock chez *Zea Mays* est hétérochromatique, il ne pourra pas être l'organisateur. Cet élément devra probablement correspondre à un (ou plusieurs ?) chromomère euchromatique localisé au voisinage du corps hétérochromatique.

8. Nous croyons probable que, dans quelques cas, l'organisateur du nucléole sera constitué par un seul chromomère, tandis que, dans d'autres, il sera constitué par un nombre supérieur.

9. La constriction nucléolaire est, en opposition avec la conclusion de McClintock et d'accord avec Resende, une formation primaire, faisant partie de la structure du chromosome, puisqu'elle ne disparaît pas lorsque, dans les hétérochromatinosomes, elle ne condense pas de la matière du nucléole.

Par le fait qu'elle n'attache pas la substance de la matrix, elle apparaît comme une région nue du chromonème, quand elle ne se recouvre pas de la substance nucléolaire.

10. Bien que cette constriction soit une formation primaire, elle doit être secondairement influencée par le développement du nucléole. La croissance du nucléole à la télophase et les difficultés que l'attachement de ce corps au chromosome peut occasionner à la spiralisation sont, à notre avis, les principaux responsables des phénomènes de labilité présentés par les zones nucléolaires. Il est évident que l'état physiologique des cellules au moment de la fixation pourra aussi influencer l'aspect de ces zones.

11. La variation de la taille des satellites au dedans de certaines limites pourra s'expliquer par l'influence de la croissance du nucléole entre le corps chromosomique et le satellite.

12. On admet que les constrictions nucléolaires, par le fait qu'elles n'attachent pas l'acide thymonucléique de la matrix,

ne subissent pas, d'accord avec Darlington (1937), le cycle de spiralisation et de despiralisation pendant la mitose.

13. La localisation des organisateurs nucléolaires vers les extrémités des bras des chromosomes et leur situation intercalaire dans l'hétérochromatine sont considérées comme des adaptations, qui ont pour but diminuer ou éliminer les perturbations apportées par la croissance et l'attachement des nucléoles au cycle mitotique des chromosomes qui les portent.

14. La chromatine des zones nucléolaires est, en opposition à la conclusion de Resende et Rijo (1948), une chromatine active, se comportant comme l'euchromatine vis-à-vis de l'hétérochromatinisation. Cependant, la chromatine nucléolaire est active pendant la mitose, particulièrement à la télophase, tandis que l'euchromatine typique (tout au moins la plupart) est active à l'état de repos (noyau métabolique). D'autre part, l'euchromatine typique attache la substance de la matrix, tandis que la chromatine nucléolaire attache la matière du nucléole. La chromatine nucléolaire est donc une euchromatine spéciale, qui nous appellons euchromatine nucléolaire, en substitution de l'expression olisthérochromatine nucléolaire de Resende et collaborateurs.

15. Par le fait que les organisateurs nucléolaires n'attachent la substance de la matrix ni la matière du nucléole lorsqu'ils sont devenus hétérochromatiques, il est probable que l'inactivité de l'hétérochromatine résultera du manque d'activité des gènes et non de l'impossibilité de la diffusion des produits de ces éléments à travers la substance de la matrix. La matrix ne se détachera pas par suite du manque de ces produits.

16. Quelques considérations sont faites en ce qui concerne la composition histo-chimique de la zone nucléolaire.

17. L'hypothèse de Heitz et Resende (in Resende, 1938, 1946 *b*), d'après laquelle la substance prénucléolaire est chimiquement différente de la substance nucléolaire, est considérée probable.

18. Le fait que, dans les cas d'hétérochromatinisation partielle, les chromosomes nucléolaires condensent de petits nucléoles montre que les gènes de l'hétérochromatine demeu-

rent les mêmes que ceux de l'euchromatine et que, quand ils sont susceptibles de fonctionner, élaborent les mêmes produits que les gènes de l'euchromatine. Cependant, la quantité de ces produits est bien plus petite.

19. La suggestion est faite de que les constrictions secondaires anucléolaires ne sont que d'anciennes constrictions nucléolaires devenues inactives par suite d'hétérochromatinisation.

BIBLIOGRAPHIE

DARLINGTON, C. D.

1937 *Recent advances in cytology*, 2.nd ed. J. & A. Churchill Ltd. London.

1942 Chromosome chemistry and gene action. *Nature*, **149**, 66-69.

1947 Nucleic acid and the chromosomes. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **1**, 252-2o9.

DOUTRELIGNE, J.

1933 Chromosomes et nucléoles dans les noyaux du type euchromocentrique. *Cellule*, **42**, 31-100.

FERNANDES, A.

1935 Les satellites chez *Narcissus reflexus* Brot. et *N. triandrus* L. I -- Les satellites des métaphases somatiques. *Bol. Soc. Broteriana*, **10** (2.a série), 249-277.

1936 Les satellites chez les Narcisses II. Les satellites pendant la mitose. *Bol. Soc. Broteriana*, **11** (2.a série), 87-146.

1939 Sur le comportement d'un chromosome surnuméraire pendant la mitose. *Scientia Genetica*, **1**, 141-166.

1943 Sur l'origine des chromosomes surnuméraires hétérochromatiques chez *Narcissus Bulbocodium* L. *Bol. Soc. Broteriana*, **17** (2.a série), 251-256.

1949 Le problème de l'hétérochromatinisation chez *Narcissus Bulbocodium* L. *Bol. Soc. Broteriana*, **23** (2.a série), 5-88.

FERNANDES, A. et FERNANDES, R.

1946 Sur la caryo-systématique du sous-genre *Ajax* Spach du genre *Narcissus* L. *Acta Universitatis Conimbrigensis*, 1-33.

FERNANDES, A. et SERRA, J. A.

1944 Euchromatine et hétérochromatine dans leurs rapports avec le noyau et le nucléole. *Bol. Soc. Broteriana*, **15** (2.a série), 67-124.

GEITLER, L.

1929 Zur Cytologie von *Crepis*. *Zeits. f. Zellf. u. mikr. Anat.*, **9**, 287-296.

HEITZ, E.

1931*a* Die Ursache der gesetzmässigen Zahl, Lage, Form und Grösse pflanzlicher Nukleolen. *Planta*, **12**, 775-844.

1931*b* Nukleolen und Chromosomen in der Gattung *Vicia*. *Planta*, **15**, 495-505.

HEITZ, E.

1935 Chromosomenstruktur und gene. *Zeits. f. Abt. u. Vererb.*, **70**, 402-447.

1936 Die Nukleal-Quetschmethode. *Ber. deut. Bot. Ges.*, **53**, 870-878.

KLINGSTEDT, H.

1941 Negative heterochromacy in Orthopteran chromosomes. *Mem. Soc. Faun. Flor. Fenn.*, **17**, 166-175.

LIMA-DE-FARIA, A.

1949 The structure of the centromere of the chromosomes of rye. *Hereditas*, **35**, 77-85.

1950 The Feulgen test applied to centromeric chromomeres. *Hereditas*, **36**, 60-74.

LORBEER, G.

1934 Die Zytologie der Lebermoose mit besonderer Berücksichtigung allgemeiner Chromosomenfragen. *Jahrb. wiss. Bot.*, **80**, 567-818.

MCCLINTOCK, B.

1934 The relation of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea Mays* *Zeits. f. Zellf. u. mikr. Anat.*, **21**, 294-328.

MENSINKAI, S. W.

1939 The conception of the satellite and the nucleolus, and the behaviour of these bodies in cell division. *Ann. Bot.*, N. S., **3**, 763-802.

NAWASCHIN, M.

1934 Chromosome alterations caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems. *Cytologia*, **5**, 169-203.

RESENDE, F.

1937 Karyologische Studien bei den *Aloinae* II. Das Auftreten von spontanen Mutationen und die Entstehung der SAT-Typen. *Bol. Soc. Broteriana*, **12** (2.ª série), 119-137.

1938 Nucleoli and SAT-chromosomes. *Bol. Soc. Broteriana*, **13** (2.ª série), 391-424.

1939 Über das Verhalten des SAT-Fadens. *Planta*, **29**, 306-314.

1940 Über die Chromosomenstruktur in der Mitose der Wurzelspitzen II. *Chromosoma*, **1**, 486-520.

1945 Hétérochromatine. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**, 139-173.

1946*a* Behaviour of the «nucleolar olistherozone». *Nature*, **157**, 266.

1946*b* Sur la constitution histo-chimique probable de la olisthérozone nucléolaire. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**, 265-270.

RESENDE, F., LEMOS-PEREIRA, A. et CABRAL, A.

1944 Sur la structure des chromosomes dans les mitoses des méristèmes radiculaires III — L'action de la température sur la structure chromosomique. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**, 9-46.

RESENDE, F. et RIJO, L.

1948 Structure of chromosomes as observed in root-tips V. Olistherochromatin, chromatic agglutination and mutations. *Portug. Acta Biol.* (A), **2**, 117-148.

REZENDE-PINTO, M. C.

1946 Une nouvelle méthode de coloration des nucléoles — Le tannin-fer III. *Portug. Acta Biol.* (A), **1**, 309.

SATÔ, D.

1937 Polymorphism of karyotypes in *Galanthus* with special reference to the SAT-chromosome. *Bot. Mag. Tokyo*, **51**, 242-250.

SERRA, J. A.

1949 *Moderna genética geral e fisiológica.* Coimbra.

SINOTÔ, Y.

1937 Karyotype analysis in the F_1 hybrids of cristate and normal forms of *Rumex acetosa. Cytologia*, **Fujii Jub. Vol.**, 1139-1146.

SMITH, F. H.

1933 The relation of the satellites to the nucleolus in *Galtonia candicans. Amer. J. Bot.*, **20**, 188-195.

THERMAN-SUOMALAINEN, E.

1948 The structure of secondary constrictions. *Hereditas*, **34**, 513-514.

1949 Investigations on secondary constrictions in *Polygonatum. Hereditas*, **35**, 86-108.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Narcissus asturiensis (Jord.) Pugsley

Fig. 1. — Plaque équatoriale dans une cellule du méristème radiculaire, montrant 15 chromosomes. La flèche indique l'hétérochromatinosome nucléolaire, dont le satellite n'est pas visible.

Fig. 2. — Plaque équatoriale. La flèche indique le satellite de l'hétérochromatinosome accolé au corps chromosomique.

Fig. 3. — Noyau interphasique montrant un nucléole unique, engendré par la fusion des deux nucléoles existants, et un chromocentre relativement compact (flèche), correspondant à l'hétérochromatinosome. Remarquer que l'hétérochromatinosome n'est attaché à aucun nucléole.

Fig. 4. — Noyau à deux nucléoles. Remarquer le chromocentre (flèche) qui n'est attaché à aucun des nucléoles.

Fig. 5. — Noyau à deux nucléoles et à chromocentre (flèche) plus désintegré (despiralisé) que dans les figures précédentes.

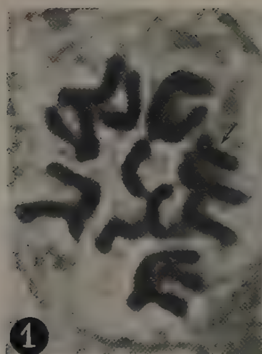
Narcissus Bulbocodium L. — Sem. 135, Plante I

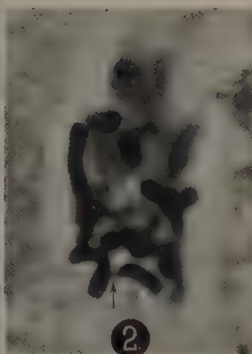
Fig. 6. — Plaque métaphasique dans une cellule du méristème radiculaire montrant 16 chromosomes, dont deux hétérochromatinosomes des types Lp et Pp'. La flèche indique l'hétérochromatinosome nucléolaire.

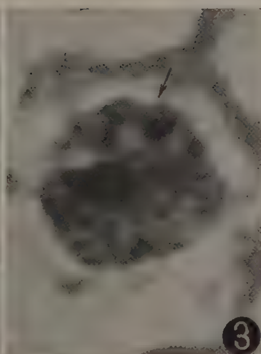
Fig. 7. — Noyau montrant le chromocentre correspondant à l'hétérochromatinosome nucléolaire. Remarquer que cet hétérochromatinosome présente un aspect métaphasique et qu'aucun satellite n'est visible à l'extrémité du bras court.

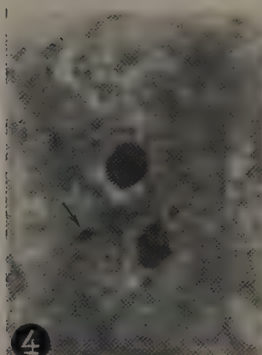
Fig. 8. — *Idem.*

Fig. 9. — Noyau au repos montrant l'hétérochromatinosome pourvu d'un satellite (flèche) accolé au corps chromosomique.

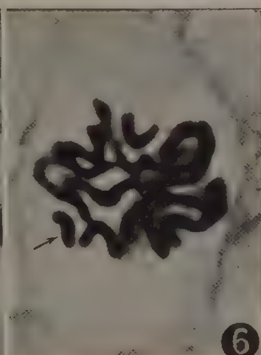

1

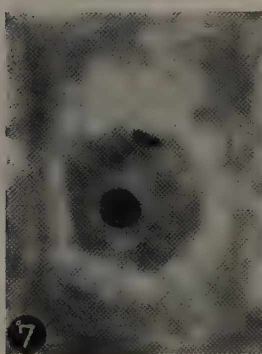

2


3


4


5


6


7


8


9

PLANCHE II

***Narcissus Bulbocodium* L.** — Sem. 135, Plante I (suite)

Fig. 1. — Noyau interphasique montrant l'hétérochromatinosome nucléolaire pourvu de satellite (flèche) accolé à l'extrémité du bras court. Remarquer que l'hétérochromatinosome n'a condensé aucun nucléole et qu'il n'est pas attaché au nucléole unique existant.

Fig. 2. — Noyau interphasique possédant un hétérochromatinosome nucléolaire qui montre un satellite (flèche) relié au corps chromosomique par un court filament. Aucun nucléole n'était visible dans la région du filament.

Fig. 3. — L'hétérochromatinosome Pp' a condensé un petit nucléole (flèche). Remarquer le satellite et la considérable distension du filament. La désintegration (despiralisation) a affecté surtout les régions situées de part et d'autre du centromère.

Fig. 4. — L'hétérochromatinosome Pp' a condensé aussi un petit nucléole (flèche). Remarquer, comme dans la figure antérieure, la distension du filament.

Fig. 5. L'hétérochromatinosome nucléolaire a condensé aussi un petit nucléole (flèche). Probablement par suite de la fixation, le nucléole s'est détaché du filament, de sorte que seul le satellite a demeuré attaché au nucléole. Remarquer, à droite, l'hétérochromatinosome Lp (flèche double) considérablement désintegré (despiralisé).

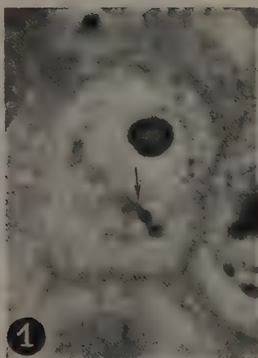
Fig. 6 — L'hétérochromatinosome est attaché au nucléole unique. Cette image correspond aux cas où le petit nucléole, condensé par l'hétérochromatinosome, s'est fusionné avec les nucléoles provenant de l'activité des euchromatinosomes Pp'. Remarquer aussi le chromocentre correspondant à l'hétérochromatinosome Lp.

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 117, Plante III

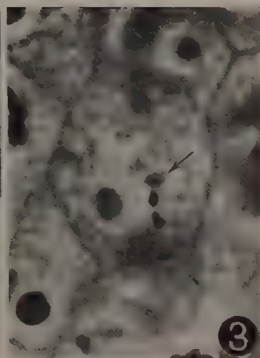
Fig. 7. — Plaque équatoriale à 18 chromosomes dans une cellule du méristème radiculaire. Les surnuméraires sont des hétérochromatinosomes, dont un du type Lp, deux du type PP et un autre du type Pp'.

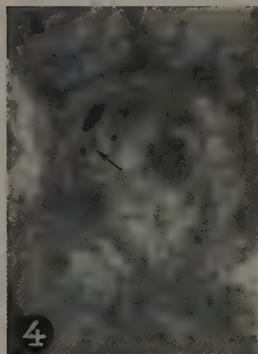
Fig. 8. — En bas, à gauche, noyau interphasique où on peut voir l'hétérochromatinosome nucléolaire, qui n'a pas condensé de nucléole et qui n'est pas attaché au nucléole volumineux unique. En haut, à droite, noyau montrant quatre chromocentres correspondant aux hétérochromatinosomes.

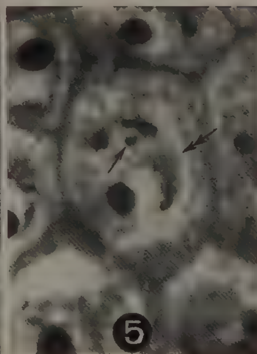
Fig. 9. — L'hétérochromatinosome Pp' a condensé un petit nucléole, situé dans la région du filament que relie le satellite (flèche) au corps chromosomique. Le nucléole se présentait dans cette figure pâlement coloré, et, pour cette raison, la photographie ne le montre pas d'une façon suffisamment nette.


1


2

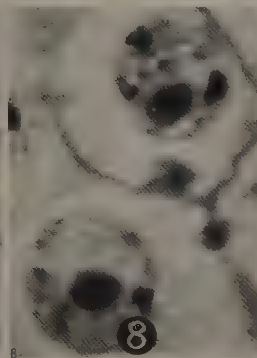

3


4


5


6


7


8


9

PLANCHE III

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 117, Plante III (suite)

Fig. 1. — L'hétérochromatinosome a condensé un nucléole relativement volumineux. Remarquer que le nucléole s'est déplacé, de telle façon qu'il est en contact avec la région du bras court voisine de la région centromérique. Cette région se montre considérablement désintegrée.

Fig. 2. — L'hétérochromatinosome (flèche) a condensé un petit nucléole, qui s'est fusionné avec un des deux autres nucléoles élaborés par les euchromatinosomes Pp'. De cette façon, l'hétérochromatinosome est attaché à ce nucléole.

Fig. 3. — Noyau à nucléole unique, auquel s'attache l'héterochromatinosome Pp'.

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 116, Plante VIII

Fig. 4. — Plaque équtoriale à 21 chromosomes dans une cellule du méristème radiculaire. Il s'agit d'un triploïde déséquilibré (v. texte). Tous les surnuméraires sont des hétérochromatinosomes, parmi lesquels se trouve un élément Pp'.

Fig. 5. — *Idem.*

Fig. 6. — Noyau interphasique montrant l'hétérochromatinosome nucléolaire pourvu de satellite (flèche) séparé du corps chromosomique. Aucun nucléole n'était visible dans la région du filament.

Fig. 7. — L'hétérochromatinosome Pp' a condensé un nucléole d'assez menues dimensions (flèche).

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 118, Plante V

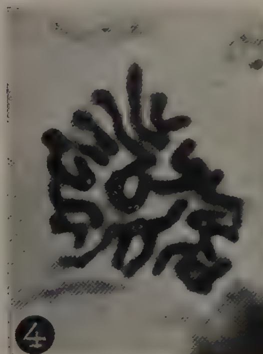
Fig. 8. — Plaque équatoriale à 20 chromosomes, dont 6 surnuméraires hétérochromatiques : 3 Lp + 2 PP + 1 Pp'.

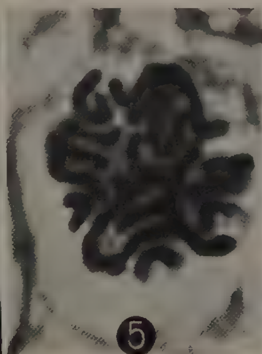
Fig. 9. — Noyau où nous avons réussi à identifier le chromosome correspondant à l'hétérochromatinosome nucléolaire, par suite du fait qu'il portait un petit satellite (flèche) accolé au corps chromosomique. Remarquer que l'hétérochromatinosome n'a de rapport avec aucun nucléole.


1

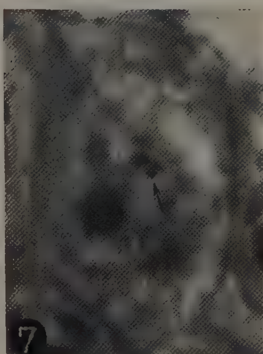

2


3


4


5


6


7


8


9

PLANCHE IV

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 118, Plante V (suite)

Fig. 1. — Télophase qui montre l'apparition de deux nucléoles (flèches) condensés par les deux euchromatinosomes Pp'.

Fig. 2. — Noyau interphasique montrant qu'aucun chromocentre n'est attaché à quelque nucléole, soit grand, soit petit.

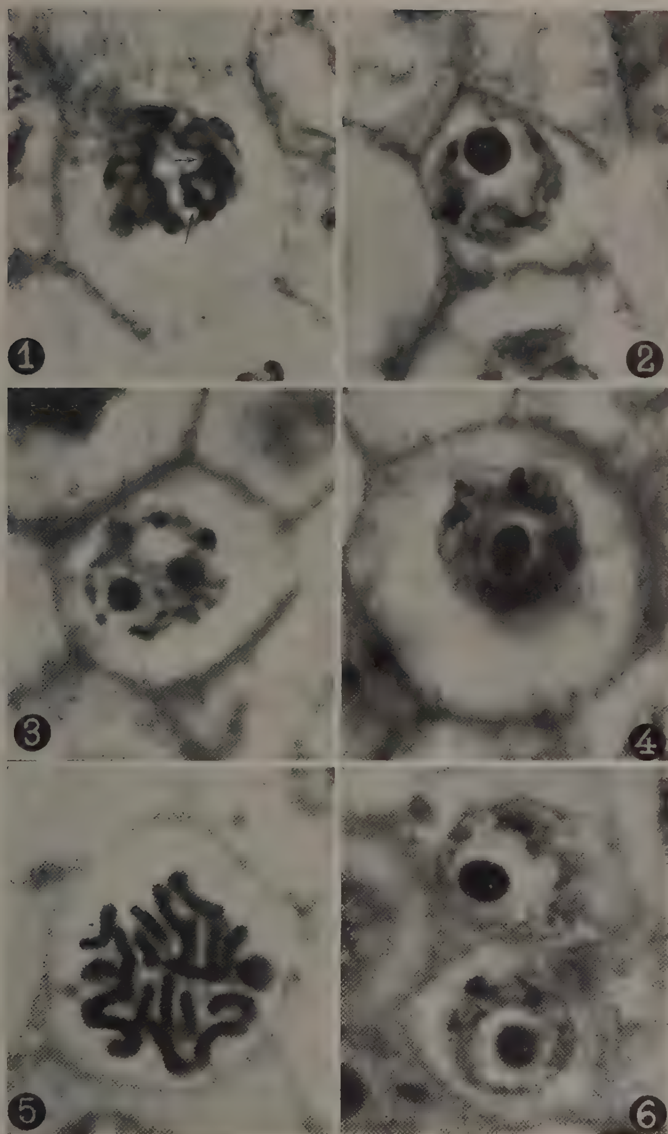
Fig. 3. — *Idem*.

Fig. 4. — *Idem*.

***N. Bulbocodium* L.** — Sem. 119, Plante IV

Fig. 5. — Plaque équatoriale à 20 chromosomes, dont 6 surnuméraires (3 Lp + 2 PP + 1 Pp) hétérochromatiques. Parmi ces chromosomes se trouve un élément nucléolaire (Pp').

Fig. 6. -- Noyau interphasique qui montre que les chromocentres n'ont de rapport avec aucun nucléole, soit grand, soit petit.


1
2
3
4
5
6

REMARQUE SUR L'AIRE GÉOGRAPHIQUE DE *NARCISSUS ELEGANS* SPACH

par

A. FERNANDES
Institut Botanique de l'Université de Coimbra

L'ÉTUDE détaillée de la répartition géographique des plantes offre, assez souvent, des difficultés considérables. En effet, quelquefois les spécimens n'ont pas été déterminés exactement; d'autres fois, quelques localités, représentées dans les herbiers, ne sont pas citées dans la bibliographie; d'autres fois, la synonymie de certaines espèces n'a pas été établie avec précision; d'autres fois, quelques espèces, considérées comme des variétés d'autres, sont mises dans les herbiers sous le nom de ces dernières; d'autres fois, surtout quand il s'agit de plantes mises en culture, beaucoup de localités ne correspondent pas à des endroits vraiment spontanés; etc. On comprend donc que la répartition géographique, dressée seulement d'après les indications bibliographiques et les listes fournies par les herbiers, puisse contenir des inexactitudes et que cette méthode de travail ne soit pas tout à fait satisfaisante. Pour obtenir des données exactes, il faudrait que l'investigateur eût à sa disposition toutes les collections possédant des échantillons des espèces concernant son étude. Malheureusement, par le fait que quelques institutions ne prêtent pas les spécimens de leurs herbiers et qu'il y a aussi des collections que n'appartiennent pas à des institutions botaniques, ce desideratum ne peut pas être réalisé le plus souvent. De cette façon, nous croyons que les inexactitudes, contenues dans les travaux des auteurs qui, pour dresser les cartes de répartition géographique de certaines espèces, ont dû se borner aux données bibliographiques et aux listes émanant des herbiers, sont compréhensibles.

* * *

Se basant sur la description de *Narcissus serotinus* Desf. donnée par GRENIER et GODRON (1856), PARLATORE (1858) dit

que le *N. elegans* Spach «nasce pure in Corsica». Richter (1890) indique aussi la Corse dans l'aire géographique de *N. autumnalis* Link (= *N. elegans* Spach). Considérant correctes les données de ces auteurs, nous avons inclus la Corse dans la carte de la répartition géographique de *N. elegans* Spach publiée dans deux travaux antérieurs (v. Fernandes, 1943, pag. 20; 1951, pag. 145).

Notre excellent Collègue, M. le Prof. R. de Litardière, dans une lettre datée du 2 août 1951, a eu l'amabilité d'attirer notre attention sur le passage suivant de l'ouvrage de Briquet ([1]): «Cette espèce aurait été signalée en Corse par Grenier et Godron selon Parlatore (*Fl. it.* III, 159). Ce n'est cependant pas le cas. Les auteurs de la *flore de France* ont seulement englobé à tort dans le *N. serotinus* L. le *N. serotinus* Desf., lequel est effectivement synonyme du *N. elegans* Spach et étrange à la flore corse.» (Briquet, *Prodr. fl. Corse* I, 326, d'après de Litardière, *in litt.*).

D'autre part, nous avons constaté que Rouy (1912) est du même avis, comme on peut se rendre compte par la lecture de la note qui accompagne la description du *N. serotinus* L.: «La description de G. et G. correspond au *N. serotinus* Desfontaines *Fl. Atlant*, 1, p. 283, t. 82 (*non* L.!), qui est le *N. autumnalis* Link *in Linnaea*, 9, p. 596 (1835), *N. Cupanianus* Guss. (1842), *N. oxypetalus* Boiss. (1843), *N. elegans* Spach (1846), lequel n'a jamais été rencontré en Corse.» (Rouy, *l. c.*, pag. 53).

Baker (1888) et Bowles (1934) ne signalent pas aussi l'existence de *N. elegans* Spach en Corse. De cette façon, cette île doit être exclue de l'aire géographique de *N. elegans* Spach.

Macchiati (1882) indique le *N. elegans* Spach comme croissant «a scala di Ciocca» en Sardaigne, et cette donnée est reproduite par Barbey (1884). Jahandiez et Maire (1931) incluent aussi la Sardaigne dans l'aire géographique de cette espèce.

Étant donné que le *N. elegans* Spach a été souvent confondu avec le *N. serotinus* L., nous croyons que les spécimens de Macchiati doivent correspondre au *N. serotinus* L. Le fait que cette dernière espèce a été la seule récoltée en Sardaigne

---

([1]) Malheureusement, nous ne possédons pas cet ouvrage à l'Institut Botanique de l'Université de Coimbra.

par d'autres botanistes (Moris, Bonjean et Thomas) parle en faveur de cette possibilité. Baker (1888) et Bowles (1934), qui ont étudié le genre *Narcissus* en détail, n'indiquent pas aussi la Sardaigne dans l'aire géographique de *N. elegans* Spach. Nous sommes donc amenés à conclure que *N. elegans* Spach n'existira pas aussi dans la flore de la Sardaigne. De cette



Fig. 1. — Aire géographique de *Narcissus elegans* Spach. Les flèches indiquent les directions des probables migrations.

façon, l'aire géographique de *N. elegans* Spach sera à peu près celle indiquée sur la figure 1.

L'exclusion de la Corse et de la Sardaigne de l'aire géographique de *N. elegans* Spach n'affecte pas d'une façon sensible les conclusions qui ont été obtenues en ce qui concerne les migrations de cette espèce (v. Fernandes, 1943, pag. 37; 1951, pag. 144). Cependant, il faudra remarquer que *N. elegans* Spach, contrairement à ce qui est arrivé au *N. serotinus* L., n'a pas réussi à gagner la péninsule que probablement a été jadis constituée par les îles de l'archipel toscain, la Corse et la Sardaigne reliées à l'Italie. Ce fait a certainement résulté soit de la circonstance de *N. elegans* Spach être une espèce plus récente que *N. serotinus* L., soit de la particu-

larité de la dernière espèce être plus résistante ou posséder une capacité de multiplication et de dissémination supérieure à celle de *N. elegans* Spach.

BIBLIOGRAPHIE

Baker, J. G.
1888 *Handbook of the* Amaryllideae. London.
Barbey, W.
1884 *Florae Sardoae Compendium.* Lausanne.
Bowles, E. A.
1934 *A handbook of* Narcissus. London.
Fernandes, A.
1943 Sur la caryo-systématique de la section *Autumnales* Gay du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **17** (2.ª série), 5-54.
1951 Sur la phylogénie des espèces du genre *Narcissus* L. *Bol. Soc. Broteriana,* **25** (2.ª série), 113-194.
Grenier et Godron
1856 *Flore de France,* III. Paris.
Jahandiez, E. et Maire, R.
1931 *Catalogue des plantes du Maroc,* I. Alger.
Macchiati, L.
1882 Contributo alla flora sarda. *Nuov. Giorn. Bot. Ital.,* **14**, 143.
Parlatore, F.
1858 *Flora italiana,* III. Firenze.
Richter, K.
1890 *Plantae Europeae,* I. Paris et Leipzig.
Rouy, G.
1912 *Flore de la France,* XIII. Paris.

ANASTOMOSES MICELIAIS

SEU VALOR NO DIAGNÓSTICO DAS POLIPOROSES

por

RAÚL VASCO DE GARCIA CABRAL
Instituto Superior de Agronomia, Lisboa

INTRODUÇÃO

A identificação do parasita, um dos factores do complexo causal, é de grande importância em Patologia. Sem o seu conhecimento, o estudo da doença torna-se imperfeito ou mesmo impossível.

Assim nas poliporoses, doenças provocadas por Himenomicetas da família das Poliporáceas, em que o lenho das árvores ou as suas madeiras são atacados, nem sempre o elemento clássico de identificação, o carpóforo, se encontra presente. Na sua ausência, raramente é possível reconhecer o fungo responsável pelo apodrecimento verificado, pois que um tipo particular de podridão não é originado por uma só espécie e, inversamente, uma dada poliporácea tem possibilidades de originar, consoante o hospedeiro, mais do que uma forma de decomposição. Aguardar, nestas circunstâncias, um período mais ou menos longo para que o esporóforo se forme não é prático nem eficaz, visto este por vezes não se constituir. Mesmo quando sobre o material atacado o carpóforo se encontra presente, a determinação é pràticamente segura apenas para certas espécies de fácil caracterização, como, por exemplo, o *Xanthochrous Pini* (Th.) Pat. [= *Trametes Pini* (Th.) Fr.]. Para a grande maioria, porém, a identificação é difícil, dado o extremo polimorfismo dos carpóforos, tornando-se quase impossível se estes se encontram apenas no seu esboço ou se, pelo contrário, já estiver velho por ter sido observado depois de passada a época ou ainda quando formado ressupinadamente.

Todos os sistematas que têm trabalhado neste campo são unânimes em admitir que estes fungos constituem um material ingrato visto os caracteres usados na distinção específica serem subjectivos.

Conseguir, portanto, qualquer método que se mostre mais rigoroso e expedito para a diagnose, é sempre um progresso nos estudos da Fitopatologia. Por isso, outros métodos vêm sendo tentados para a identificação dos fungos. Um destes consiste no estudo minucioso dos caracteres culturais morfológicos, macro e microscópicos, e dos caracteres fisiológicos do fungo, comparando em seguida os resultados com aqueles que, para cada espécie, se encontram relatados na literatura especializada. Este processo de identificação não satisfaz, pois, além de muito moroso, não oferece rigor suficiente. Para mais, nem todas as espécies têm sido estudadas nesse sentido e, na maioria, os caracteres microscópicos descritos são insuficientes para a sua identificação.

Algumas vezes é usado um outro método, semelhante ao anterior, mas mais rigoroso, baseado na comparação das características culturais do fungo isolado, com aquelas que possuem as culturas da micoteca. Estas culturas padrões devem ser, evidentemente, obtidas a partir de carpóforos seguramente determinados. Este método, além de moroso, é inconveniente pelo facto de obrigar a manter-se na micoteca um número elevado de culturas, com a agravante de que, pelo seu emprego, se não pode garantir a identificação, dada a extraordinária variabilidade de aspectos culturais que estes fungos podem exibir, especialmente em contínua subcultura. No entanto já se tem elaborado chaves de identificação compreendendo as características culturais (ex.: Nobles, 1948).

A obtenção de carpóforos, em cultura pura, pode, de certo modo e em alguns casos, auxiliar a identificação do fungo, por permitir restringir o número de espécies. Para numerosas Poliporáceas já se tem conseguido esta produção, com caracteres idênticos aos dos esporos naturais, mas é um processo muito lento que chega a demorar várias semanas ou mesmo muitos meses, consoante as espécies, tendo por vezes de se esperar além de um ano e meio (Mounce, 1929). Mesmo assim, uma vez obtido o carpóforo artificial, ficamos perante dificuldades iguais às da identificação das frutificações naturais.

Ainda se conhece um outro método o qual consiste na avaliação macroscópica, em cultura mista, das reacções entre o isolamento obtido e as culturas da micoteca. Todavia, já Robak

(1942) demonstrou que esta simples análise não tem valor nem consistência como elemento fundamental na identificação.

Qualquer dos métodos mencionados não satisfaz por uma das duas razões: ou por falta de rigor, e como consequência, possibilidade de induzir a erros na identificação, ou por conduzir a determinação de uma diagnose a um período, como regra, muito largo, o que é sempre inconveniente.

Por sabermos que diferentes autores vêm admitindo que a formação de anastomoses miceliais resultantes do confronto entre duas culturas é uma característica específica, quizemos ensaiar até que ponto se poderia tirar partido desta propriedade e servirmo-nos dela na identificação da espécie e, consequentemente, no estabelecimento de diagnoses.

Não pudemos, porém, ao delinear o presente trabalho, apoiar o nosso plano em quaisquer resultados que outros investigadores tivessem obtido, porquanto todos, exceptuando Robak (1942), trabalharam exclusivamente em confrontações entre culturas haploides (nomeadamente espécies heterotálicas com ansas de anastomoses), servindo-se de técnicas muito simples, sem aplicação na prática corrente da diagnose de poliporoses, quando falta o carpóforo. De facto, o confronto entre diplontes não se encontra condicionado nem pelo homotalismo, nem por quaisquer das formas de heterotalismo, quer as espécies em questão possuam ou não ansas de anastomoses.

O seu valor prático, na identificação das poliporoses, é ainda de maior alcance se considerarmos que, em geral, a maioria das culturas mantidas nas micotecas é diploide, pela maior facilidade com que se obtém o micélio secundário.

Sòmente um autor (Robak, 1942), se dedicou, e resumidamente, aos estudos de confrontações de micélios dicarióticos em Himenomicetas. As suas indicações não nos puderam dar, porém, mais do que ligeiros esclarecimentos àcerca da maneira como ele encaminhava os estudos, principalmente no que respeitava à técnica empregada. Trabalhando com espécies não só em número reduzido como ainda de muito pouco ou nenhum interesse para o nosso país, os seus resultados contêm, para nós, apenas um valor muito limitado.

Nestas circunstâncias abalançámo-nos a uma empresa em que, na realidade, muito era ignorado, quer no que respeitava

aos métodos culturais, quer às técnicas empregadas ou ainda no referente à maneira como os fungos se mostravam com maior ou menor possibilidade de serem cultivados com fins de confronto e respectivas reacções, segundo a constituição do meio de cultura.

Por estas razões, achámos preferível num primeiro trabalho, lançarmos mão de um número um tanto avultado de espécies de Himenomicetas (Quadro I) e verificarmos, de uma maneira geral, o seu comportamento. Conhecido este, bem como a maneira mais favorável como elas se desenvolvem em certos meios de cultura; determinada a forma como mais fácil ou mais dificilmente se originam as anastomoses; afinada a técnica a ponto de permitir uma observação expedita e segura das fusões miceliais; enfim, de posse dos conhecimentos de todo o conjunto do seu tipo de reacções, poder-se-á, então, organizar futuros ensaios que forneçam um método de estudo mais em profundidade do que em extensão. Estes, porém, só teriam razão de ser quando se soubesse quais as dificuldades que o material, na generalidade, iria mostrar nas experiências de confrontação.

O presente estudo tinha, pois, forçosamente, de ser um primeiro contacto com os ensaios de confrontação em que havia que estudar meios, técnicas, métodos e onde se teria que determinar se as espécies mais frequentes de Poliporáceas no nosso país se mostravam susceptíveis de poderem ser identificadas por um método de confronto de micélios diploides.

Uma única razão se nos afigurava de interesse marcado: era aquela que nos fazia crer na possibilidade, pelo estudo das confrontações, de se conseguir um método que permitisse, com mais segurança que outro qualquer usado até então, a realização de uma diagnose. Por ele pretende-se identificar o Himenomiceta causador de uma dada podridão, pondo em confronto culturas puras, isoladas dos tecidos atacados, com determinadas culturas da colecção de uma micoteca, criteriosamente escolhidas consoante os casos. Partindo do facto reconhecido, experimentalmente, de que se não formam híbridos interespecíficos neste grupo de fungos, podemos afirmar, de acordo com os postulados de especificidade de VANDENDRIES que, quando os micélios das duas culturas ensaiadas se encontram e se anastomosam, as duas estirpes são coespecíficas.

Ao objectivo prático do presente trabalho sobrepôs-se um outro, teórico, que foi o da confirmação do próprio postulado de VANDENDRIES, e a sua aplicação ao campo da Sistemática. Assim, dentro da escolha das culturas a ensaiar, procurou-se incluir confrontos entre fungos cuja identificação pode dar lugar a controvérsias, por se tratar de espécies ou de formas muito afins, de categoria taxonómica discutível.

Ocasionando constantemente as poliporoses prejuízos avultados, elas têm um significado económico de valor apreciável e justificam plenamente o presente trabalho.

Neste estudo adoptámos, para os Himenomicetas, o sistema de nomenclatura de BOURDOT & GALZIN (1928).

ANASTOMOSES MICELIAIS NA IDENTIFICAÇÃO DE HIMENOMICETAS

Revisão bibliográfica

No estudo de anastomoses entre micélios de duas culturas da mesma espécie, podem considerar-se três modalidades quanto ao estado dos biontes: os confrontantes serem ambos haploides, ser um haploide e o outro dicariótico, ou tratar-se de dois micélios secundários. Estes três tipos de confrontações podem realizar-se nas espécies heterotálicas, mas nas homotálicas apenas a última modalidade é possível, como é óbvio.

As anastomoses são de natureza sexuada ou vegetativa,

Nos confrontos entre dois micélios haploides, as fusões são de natureza sexuada sempre que os respectivos factores de esterilidade não sejam comuns (exceptuando os casos mais raros de copulações ilegítimas); nos restantes casos são vegetativas.

A verificação constante, por parte de VANDENDRIES (1923 b, 1937) e outros investigadores, da compatibilidade geral entre diversas estirpes de haplontes da mesma espécie (heterotalismo multipolar), levou aquele micologista a enumerar o seguinte critério ou postulado de especificidade: «Se os haplontes de dois carpóforos selvagens são sempre e indefinidamente férteis entre si, estes dois carpóforos devem pertencer à mesma espé-

cie; se são estéreis entre si, os dois carpóforos devem pertencer a espécies diferentes».

Na segunda modalidade, isto é, nos confrontos entre um micélio haploide e um dicariótico da mesma espécie, dá-se quase sempre o fenómeno de Buller, como o designou Quintanilha (1937), mesmo quando se trata de confrontações incompatíveis nas espécies heterotálicas tetrapolares. De facto, a dicariotização, ou diploidização como lhe chamou Buller (1930, 1931), de um micélio haploide por um secundário verifica-se não sòmente entre os biontes do mesmo carpóforo, como também quando o haplonte e o dicarionte são de origem diferente. Buller verificou que a dicariotização se dá sempre que os confrontantes pertencem à mesma espécie. Vandendries (ver Quintanilha & Pinto-Lopes, 1950) fundamentando-se na generalização deste fenómeno nas confrontações entre os biontes de carpóforos diferentes, enuncia um novo postulado: «Se um micélio secundário diploidisa um micélio primário, os dois micélios pertencem seguramente à mesma espécie».

Quanto ao confronto entre diplontes, as fusões são sempre de natureza vegetativa. Embora desconheçamos qualquer trabalho sobre a citologia e genética destas combinações nos Himenomicetas, sabemos que as anastomoses se podem verificar quando os dicariontes pertencem à mesma espécie (Buller, 1924; Robak, 1942). Independentemente um do outro, Vandendries e Buller (ver Quintanilha & Pinto-Lopes, 1950) baseando-se neste princípio propõem novo critério para a distinção específica, que se pode enunciar da seguinte forma: a compatibilidade entre dois micélios secundários indica identidade específica.

Temos, assim, à nossa disposição três processos para tentar a identificação das espécies, recorrendo ao método das confrontações. Para que este possa ser utilizado sem o receio de se verificarem fusões que não sejam intraespecíficas, pois de contrário os postulados deixariam de ter qualquer interesse prático, achámos conveniente examinar a literatura micológica referente ao hibridismo interespecífico nos Himenomicetas.

É de admitir a ocorrência destes híbridos na natureza, embora nada esteja escrito sobre este problema, talvez por as investigações não terem sido orientadas neste sentido. Experimentalmente, as diversas tentativas realizadas para a obtenção

de híbridos neste grupo de fungos têm resultado infrutíferas. Assim, BRUNSWIK (1924) falhou nos seus ensaios de cruzamento interespecífico em *Coprinus*, o mesmo acontecendo a KNIEP (1928) entre diferentes espécies dos géneros *Collybia*, *Hypholoma* e *Mycena*, e a VANDENDRIES nos cruzamentos *Pholliota mutabilis* Fr. ex Schaeff. × *P. aurivella* Fr. ex Batsch. e *Pleurotus nidulans* Pers. × *P. columbinus* Quél. (1933), e *Leucoporus brumalis* (Fr. ex. Pers.) Quél. × *L. auricularis* (Fr. ex Batsch.) Quél. (1936).

A esterilidade entre a *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr. e *Trametes protracta* Fr. foi mencionada por MOUNCE (1930), e de *L. saepiaria* com *T. americana* Overh. por MOUNCE & MACRAE (1936).

BARNETT (1937) nada obteve nas tentativas de cruzamento entre a *Exidia glandulosa* (Bull.) Fr. com a *E. recisa* (Ditm.) Fr. e com a *E. saccharina* Fr.

QUINTANILHA (1941) realizou inúmeros ensaios de cruzamentos interespecíficos, observando sempre completa interesterilidade.

Em culturas laboratoriais sobre excremento de cavalo, BULLER (1941) nunca observou carpóforo algum que suspeitasse tivesse origem híbrida, apesar de diversas espécies de *Coprinus* se desenvolverem juntas sobre o mesmo substracto, isto é, os micélios haploides das diferentes espécies, vegetando em comum, não se fundiram para originar dicariontes e depois carpóforos híbridos.

NOBLES (1943) procedendo a diversas confrontações entre estirpes de origens diferentes (incluindo de países diversos) de *Poria microspora* Overholts, *Trametes serialis* Fr., *Polyporus palustris* Berk. e *Poria Sequoiae* Bonar encontrou sempre completa incompatibilidade entre espécies distintas.

KÜHNER & JOSSERAND (1944) não tiveram êxito na tentativa de hibridação entre o *Coprinus lagopus* var. *sphaerosporus* Kühner et Josserand e *Coprinus radiatus* (Bolt.) Fr. ss. Lange, bem como YEN (1947) entre as espécies afins *Conocybe spicula* e *C. tenera*.

ROUTIEN (1940) ensaiando numerosíssimos cruzamentos interespecíficos e intergenéricos, utilizou em ambos os casos seis pares de confrontantes, compreendendo espécies dos géneros *Coprinus*, *Panaeolus*, *Annelaria*, *Naucoria* e *Psathyrella*. Em

todas as confrontações obteve resultados negativos excepto numa, o confronto *Annelaria separata* (Fr.) Kars. × *Naucoria semiorbicularis* (Fr.) Quél., que foi anunciada pelo autor como sendo a primeira obtenção de um híbrido intergenérico. Àparte este único caso, que mais adiante discutiremos, a ciência não tem logrado obter híbridos nos Himenomicetas.

No referido trabalho, Routien cita erradamente como cruzamento interespecífico um confronto fértil obtido por Vandendries (1937) com duas formas de *Omphalia maura* Fr. (a forma típica negra × albina).

Fundamentando-se no facto, verificado experimentalmente, da não ocorrência de híbridos e nos critérios ou postulados de especificidade, atrás mencionados, diversos micologistas procuraram estudar problemas de sistemática, como, por exemplo, a identificação ou a delimitação das espécies, particularmente dentro de certos agrupamentos complexos. Estas investigações eram por vezes acompanhadas, paralelamente, de estudos de outros elementos de caracterização, tais como os caracteres morfológicos e culturais. A quase totalidade destes trabalhos foi realizada com culturas haploides.

Procurámos rever o que havia de interessante quanto à aplicação do método dos confrontos miceliais na determinação dos Himenomicetas, em especial, às espécies muito semelhantes entre si, e tidas, ou como distintas, ou como idênticas quando determinadas pelos sistemas usuais baseados em caracteres morfológicos; também procurámos referências da aplicação deste critério a espécies incluidas em determinados agrupamentos confusos.

A presente revisão, juntamente com os resultados das nossas investigações, permitir-nos-á discutir e avaliar o valor deste critério como auxiliar da sistemática e portanto na diagnose.

Para maior clareza da exposição, vamos apresentar, por partes, os vários casos de aplicação do critério de especificidade.

a) *Confrontações entre estirpes da mesma espécie*

Os primeiros trabalhos de confrontações entre estirpes da mesma espécie devem-se a Kniep (1922) que relata a fertili-

dade geral entre os haplontes, de diversas origens, do *Schizophyllum commune* Fr. HANNA (1925) refere-se ao mesmo facto, trabalhando com o *Coprinus lagopus* Fr., enquanto NEWTON (1926) o cita para o *C. Rostrupianus* Hans.

VANDENDRIES (1923-1937), na sua vasta obra, menciona numerosos casos de aplicação do critério de especificidade, tendo como material de trabalho diversas espécies, em especial o *Coprinus micaceus* Fr. ex Bull. de que fez um estudo aturado, particularmente no que dizia respeito ao comportamento nas confrontações entre os haplontes europeus (da Inglaterra, França, Bélgica, Holanda, Luxemburgo, Alemanha, Áustria e Itália), americanos (do Canadá e E. U. A.) e também argelinos (VANDENDRIES, 1926, 1927a, b, 1929, VANDENDRIES & ROBYN, 1929). Referindo-se a esta sua linha de trabalho, VANDENDRIES chega a diversos resultados ([1]) que ele próprio reune nesta conclusão final: «À la surface du globe existe actuellement pour *Coprinus micaceus* un état d'équilibre sexuel, dominé par deux lois:

1. Les populations très éloignées l'une de l'autre, sont stériles entre elles.
2. Celles dune même région sont fertiles entre elles.

Toute perturbation dans cet état d'harmonie naturelle trouve sa raison d'être dans des mutations. Celles-ci sont indé-

---

([1]) Estas conclusões são em número de onze, dentre as quais destacamos as seguintes:

3) Entre souches d'une même région, mais suffisamment distantes pour qu'on puisse les considérer comme étrangères l'une de l'autre, la fertilité est la règle. Cette loi souffre cependant des exceptions, dues à des mutations.

6) Les souches européenes, cueillis à de grandes distances les unes des autres, sont en général stériles entre elles. Il y a pour cette loi des exceptions que les conclusions 4 et 5 expliquent.

7) La souche d'Alger est stérile pour les souches européennes et les souches américaines.

8) Les souches américaines sont portées à la fertilité entre elles. On trouve à cette loi des exceptions assez nombreuses entre souches très éloignées l'une de l'autre.

9) Entre races américaines et races européennes la stérilité est générale. Les rares exceptions à cette loi s'expliquent par des mutations individuelles.

pendantes de facteurs extrinsèques, tels que climat, latitude, habitat, agents naturels extérieurs.

Les individus mutants ne représentant qu'une minorité, l'état d'équilibre défini est appelé à persister comme conséquence inéluctable des lois de l'hérédité et de la loi du nombre».

Por aqui se depreende que há sempre esterilidade entre os haplontes originados de carpóforos provenientes de países distantes (raças geográficas distintas) e que a interfertilidade apenas se regista quando os carpóforos são colhidos numa mesma região (mesma raça geográfica).

As excepções a estas leis são, porém, tão frequentes e numerosas, pelo menos quando aplicadas a outras espécies que hoje as referidas conclusões já não são consideradas.

Mounce & Macrae (1938) trabalhando com o *Fomes pinicola* (Sw.) Cooke [= *Ungulina marginata* (Fr.) Pat.] demonstraram pelos confrontos de micélios haploides que esta espécie se poderia dividir em três grupos intraférteis. Os carpóforos de origem norte-americana constituiam dois grupos: um grupo grande A e outro pequeno B, sendo os haplontes destes, pràticamente, incompatíveis quando confrontados com os do A, mas dentro de cada agrupamento os haplontes eram interférteis. Um terceiro grupo C era constituído por culturas de origem europeia (França, Suécia e Alemanha) e japonesa, todas férteis entre si. Este grupo C era quase totalmente compatível com o A e apenas parcialmente incompatível com o B. Se as combinações A e B não fossem compatíveis com o grupo C, os referidos autores quase admitiam uma distinção específica entre os agrupamentos A e B.

Comparando estes resultados com as conclusões de Vandendries, obtidas para o *C. micaceus*, verificamos que não condizem com as do micologista belga. Assim, este afirma que «as estirpes europeias colhidas a grandes distâncias umas das outras, são em geral interestéreis» e que «a esterilidade é geral entre as raças americanas e europeias».

Agrupamentos parecidos aos que se acabam de referir, isto é, incompatibilidade intraespecífica de determinados haplontes, são também conhecidos no *Coprinus micaceus* (Vandendries, 1927 a, b, 1929; Kühner, Romagnesi & Yen, 1947), no *C. radians* (Desm.) Fr. (Vandendries, 1924), na *Auricularia Auricula-Judae*

(Fr.) Schröt. (Barnett, 1937), no *Corticium coronilla* v. Höhn. et Litsch. (Biggs, 1937) e no *Polyporus abietinus* (Dicks.) Fr. (Macrae, 1941).

Ainda na espécie *Fomes pinicola*, Mounce (1929) encontrou uma única estirpe que se adaptava aos resultados de Vandendries. Esta cultura proveniente de Colombia Britânica (Canadá) mostrou-se estéril em 94 % das confrontações com os haplontes do Ontário (Canadá), França e Suécia. À parte esta excepção, todas as diferentes culturas monospóricas destas chamadas «raças geográficas» ou «estirpes sexuais» se mostraram interférteis.

Um facto curioso de interfertilidade é conhecido neste Himenomiceta (Mounce, 1929; Mounce & Macrae, 1938). Quando se confrontaram culturas monospóricas obtidas de dois carpóforos colhidos simultâneamente sobre a mesma árvore (*Picea mariana*), os cruzamentos mostraram-se sempre positivos em todas as combinações. Isto foi explicado admitindo ter havido na árvore mais do que uma fonte de infecção, não resultando os citados carpóforos do mesmo micélio haploide. Facto idêntico se verificou com dois carpóforos do mesmo fungo vegetando sobre a *Tsuga heterophylla*. Se, porventura, os esporóforos tivessem origem comum, os seus haplontes ao serem confrontados deveriam comportar-se como se fossem isolados do mesmo chapeu e exibir um quadro típico de bipolaridade, própria da espécie. Cremos que a hipótese de uma possível mutação, fenómeno frequente nos Himenomicetas, poderia explicar também esta aparente anomalia.

Robak (1942) realizando as confrontações de nove estirpes diploides, oito norueguesas e uma canadiana, de *Stereum sanguinolentum* (A. et S.) Fr., não obteve, caso extraordinário, nenhuma anastomose entre os pares confrontados, a não ser entre as hifas da mesma cultura. Esta ausência geral e total de fusão foi atribuida à fraca tendência para as anastomoses entre as diferentes culturas desta espécie, sendo possível que a sua qualidade de espécie homotálica, ou mesmo partenogenética, como frequentemente se comporta, tenha qualquer relação com este resultado negativo. O referido autor aconselha, como é natural, usar de cautela na apreciação dos resultados negativos. Vimos também, atrás, que a interesterilidade de duas culturas

haploides nem sempre traduz uma distinção específica, mormente quando os carpóforos ou culturas possuem os mesmos caracteres.

Para o *Coprinus radians*, verificou VANDENDRIES (1924) completa fertilidade entre os haplontes de diversas proveniências. Observou, porém, um único haplonte interfértil com os outros do mesmo carpóforo, e interestéril com alguns outros de um carpóforo de origem diferente, interpretando esta irregularidade por uma mutação sofrida por aquele haplonte.

A fertilidade geral entre os haplontes obtidos de países diversos, mesmo pertencentes a continentes diferentes, encontra-se ainda relatada em vários trabalhos que a seguir mencionamos.

BULLER (1924) e MACRAE (1937, 1942) verificaram ser férteis entre si, os haplontes americanos (forma luminescente) e europeus (forma não luminescente) do *Panus stypticus* (Bull.) Fr.

BRODIE (1936) observou também interfertilidade dos haplontes europeus e americanos na *Lenzites betulina* (L.) Fr.

«Raças geográficas» interférteis foram igualmente descritas por BRUNSWICK (1924) para o *Coprinus comatus* Fr. ex Müll. e por MOUNCE & MACRAE (1937) para *Fomes roseus* (Alb. et Schw.) Cooke e *F. subroseus* (Weir.) Overh.

ROBAK (1942) obteve cruzamentos intraespecíficos nas confrontações entre haplontes de diferentes estirpes de *Corticium evolvens* Fr., de *Stereum purpureum* Pers., de *Trametes odorata* (Wulf.) Fr. e de *T. serialis* Fr., bem como compatibilidade nos confrontos entre diplontes das formas poroides de origem canadiana e norueguesa do *Polyporus abietinus* (Dicks.) Fr.

NOBLES (1943) realizando confrontações intraespecíficas com haplontes de *Poria microspora* Overholts, *Trametes serialis* Fr. e *Polyporus palustris* Berk., obtidos de carpóforos colhidos em localidades, ou mesmo países diferentes, nunca deixou de verificar uma completa fertilidade entre eles.

VANDENDRIES obteve fertilidade entre «raças estrangeiras» de *Coprinus radians* (Desm.) Fr. (1924) e também entre «raças estrangeiras» de *Trametes suaveolens* (L.) Fr. provenientes de Rixensart (Bélgica) e de Viena (Áustria) (1933).

Vários outros trabalhos se podem ainda citar referentes à interfertilidade geral de estirpes diferentes da mesma espécie:

Vandendries (1923 b) para o *Panaeolus campanulatus* Fr. ex Lin.; Mounce (1926) para o *Fomes pinicola* Fr. e *Pholiota adiposa* Fr.; Buller & Newton (1927) para o *Coprinus fimetarius* Fr. ex L.; Vandendries (1927 a, b, 1929) para o *C. micaceus* Fr. ex Bull.; Mounce (1930) para o *Fomes roseus* (Fr.) Cooke, *Lenzites saepiaria* Fr. e *Polyporus anceps* Peck; Bose (1934) para os carpóforos vermelhos e brancos do *Polystictus sanguineus* (L.) Mey.; Vandendries (1934) para o *Hypholoma sublateritium* (Fr. ex Schaeff.) Karst.; Mounce & Macrae (1936) para a *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr. e *Trametes odorata* (Wulf.) Fr.; Fries (1936) para a *L. saepiaria* (Wulf.) Fr.; Barnett (1937) para a *Exidia recisa* (Ditm.) Fr., *E. saccharina* Fr. e *E. glandulosa* (Bull.) Fr.; Raestad (1940) para o *Polyporus abietinus* (Dicks.) Fr. e *Irpex fuscoviolaceus* (Ehrenb.) Fr.

A fertilidade entre formas distintas dentro da mesma espécie, foi verificada por Fries (1948) para as formas *typica* e *albina* da *Clytocybe aurantiaca* (Wulf.) Fr. e por Vandendries (1937 a) entre as formas *negra* e *albina* da *Omphalia maura* Fr. Yen (1948) relata a interfertilidade de haplontes de *Agrocybe* (*Pholiota*) *praecox* e *Agrocybe sphaleromorpha*, mas, naturalmente por admitir uma incorrecta identificação dos fungos, prefere antes considerá-los duas formas da mesma espécie.

Robak (1942) confrontando dez estirpes (culturas diploides), entre si, da *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr. (oito norueguesas e duas canadianas) teve enormes dificuldades na obtenção de resultados positivos sendo estes conseguidos, apenas em maioria, nos confrontos das estirpes canadianas com as norueguesas. Quanto às restantes confrontações entre estirpes do mesmo país, exceptuando um único confronto, as anastomoses, ou não se verificaram, ou se efectuaram tão tarde que não houve possibilidade de as distinguir em virtude do excessivo emaranhado dos micélios. O insucesso foi atribuído ao meio de cultura que, por não se ter encontrado um mais conveniente, não permitiu que se esclarecesse este caso.

Por outro lado, nos confrontos entre haplontes da mesma estirpe e de estirpes diferentes, Robak observou, por vezes, falta de anastomoses, atribuindo neste caso a obtenção destes resultados negativos, provàvelmente, à avançada idade dos isolamentos. As culturas norueguesas tinham sido isoladas havia

18 meses a dois anos, e as canadianas três a quatro anos. Mounce & Macrae (1936) ao estudarem a forma de heterotalismo nesta mesma espécie, com material canadiano, notaram que uma determinada estirpe dava um quadro incompleto de bipolaridade e procuraram explicar a sua irregularidade pela maneira como obtiveram as culturas monospóricas, que foi a partir de um carpóforo, já muito velho e mantido no laboratório, tendo sido prèviamente humedecido para a colheita dos esporos.

Outras vezes a dificuldade residiu no facto de o próprio fungo tornar o meio impróprio para o seu desenvolvimento, por um mecanismo de autointoxicação. Por isso os micélios nunca chegavam a encontrar-se. Este tipo de obstrucionismo é mencionado por Robak (1942) nos confrontos entre certos isolamentos de *Trametes odorata* (Wulf.) Fr. onde também se observaram umas fusões muito semelhantes a verdadeiras, mas cuja autenticidade não poude ser comprovada. Àparte estas irregularidades os restantes confrontos mostraram-se interférteis.

b) *Espécies tidas como idênticas, mas consideradas distintas pela técnica do confronto*

A *Drosophila gracilis* (Fr. ex Pers.) Quél. é, ao que parece, uma espécie de difícil determinação. Quintanilha (1944) recebeu de dois micologistas franceses (Heim e Romagnesi), esporos de uma Agaricácea sob os nomes de *D. gracilis* (Fr. ex Pers.) Quél. e *D. gracilis* (Fr. ex Pers.) Quél. sensu Konrad et Maublanc. Os cruzamentos efectuados entre os seus haplontes resultaram sempre negativos, pelo que admitiu, como muito provável, tratar-se de espécies diferentes.

Quintanilha cita ainda outro caso semelhante, de culturas obtidas de esporos enviados de um carpóforo identificado como sendo *Drosophila caudata*, mas que se não mostraram férteis com as da *D. caudata* (Fr.) sensu Ricken. Este facto, aliado às circunstâncias de as respectivas culturas revelarem também diferenças morfológicas notáveis, permitiu que se pronunciasse pela não identidade das referidas espécies.

Robak (1942) confrontando, entre si, uma estirpe sueca e três norueguesas de *Trametes serialis* Fr. (culturas diploides)

obteve sempre interfertilidade nas diferentes combinações destas culturas; porém, todas elas reagiram negativamente quando confrontadas com uma cultura recebida do Canadá sob o mesmo nome. Mencionámos, ainda há pouco, como alguns casos de interesterilidade podem não significar distinção específica. Mas neste exemplo o comportamento negativo parece não suscitar dúvidas a Robak quanto à diferença existente entre a estirpe americana por um lado, e as escandinavas por outro, pois que além desta incompatibilidade outras diferenças se podiam observar nos caracteres culturais (aspecto nos meios gelosados, vigor do micélio aéreo e rapidez de frutificação) e em certos caracteres fisiológicos (reacção de oxidase e temperatura óptima). Nos ensaios, as extremidades das hifas da estirpe americana em presença da norueguesa apresentam-se frequentemente, entumescidas, granulosas, chegando por vezes a rebentar.

c) *Espécies tidas como diferentes e confirmadas pela técnica de confronto*

As duas Poliporáceas *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr. e *Trametes americana* Overh., possuem carpóforos com o mesmo aspecto e cor, e causam um tipo de podridão idêntico. Têm sido, geralmente, consideradas como espécies distintas, residindo a principal diferença no facto de a primeira ter o himénio tìpicamente lamelar, e a segunda o tipo poroide, mas a *T. americana* também tem sido indicada como sendo uma forma poroide da *L. saepiaria*. Os estudos levados a efeito por Mounce (1930) e por Mounce & Macrae (1936) mostraram completa esterilidade entre os haplontes destas espécies, confirmando assim tratar-se de duas espécies diferentes. Robak (1942), servindo-se igualmente de culturas haploides, comprova o resultado anterior.

A distinção específica entre *Lenzites trabea* e *L. saepiaria* e entre *L. trabea* e *Trametes americana* ([1]) foi também certificada por Mounce & Macrae (1936).

([1]) Entre os micologistas norte-americanos esta espécie é também conhecida pela sinonímia de *Trametes odorata* (Wulf.) Fr. e *T. protracta* Fr.

Mounce & Macrae (1937) verificaram do mesmo modo, não obstante a grande semelhança entre as duas espécies, que os micélios monospóricos de *Fomes roseus* (Alb. et Sw.) Cooke e *F. subroseus* (Weir.) Overh. eram interestéreis, e, por conseguinte, estava inteiramente certo considerarem-se como espécies diferentes aqueles dois *Fomes*.

A utilização do postulado de especificidade serviu também para Quintanilha (1941) esclarecer um interessante problema, de há muito discutido, quanto à posição sistemática da *Drosophila appendiculata* (Fr. ex Bull.) Quél. e *D. Candolleana* (Fr.) Quél. Os estudos de interfertilidade, realizados com esporos de várias proveniências, revelaram a existência de dois grupos completamente interestéreis. Romagnesi, esclarecido por este resultado e após cuidadoso estudo comparativo, poude de facto reconhecer nos carpóforos dos dois agrupamentos, certos elementos morfológicos que lhe permitiram estabelecer, em definitivo, a distinção específica.

d) ***Espécies tidas como diferentes, mas consideradas idênticas pela técnica do confronto***

Fomes pinicola Fr. e *F. marginatus* Fr. foram consideradas durante muito tempo como duas espécies distintas, mas de há uns quarenta anos para cá, diversos autores eram de parecer que o *F. marginatus* não era mais do que uma forma do *F. pinicola*. Mounce (1929) estudando os caracteres culturais de um grande número de culturas não conseguiu relacionar qualquer variação destas com as diferenças encontradas no carpóforo, e os haplontes obtidos destas espécies, confrontados entre si, mostraram-se sempre interférteis, pelo que considerou tratar-se de espécies idênticas.

A mesma identidade específica entre a *Lenzites trabea* (Pers.) Fr. e a *L. thermophila* Falck foi estabelecida por Mounce & Macrae (1936) pela anastomose dos respectivos haplontes, corroborando, desta forma, o resultado obtido anteriormente por Cartwright (1931) em estudos culturais comparativos.

Quintanilha (1944) provou que o «*Coprinus lagopus*», que constituiu durante largos anos o material de trabalho de Kniep, Buller e seus discípulos, era idêntico ao *Coprinus fime-*

tarius Fr. ex L. (espécie estudada por Bensaúde e Quintanilha), e que, por sua vez, é igual ao *C. radiatus* (Bolt.) Fr. non Lange, pois que o verdadeiro *C. lagopus* Fr. foi apenas estudado por Brunswik (1924).

O agente causador do «prateado» das folhas das Rosáceas, *Stereum purpureum* Fr. ex Pers., é bastante polimorfo, isto é, entre as suas formas extremas, pileada e ressupinada, encontram-se todos os estados intermédios. O *S. rugosiusculum* Berk. et Curt., não obstante ser muito análogo ao *S. purpureum*, tem sido tomado como diferente pelos autores norte-americanos ou porque a sua forma é geralmente resupinada, tornando-se com a idade levemente reflexa e glabra pelo desaparecimento da pubescência dorsal, ou porque possui cistídios (Overholts, 1939). Sabemos que as formas europeias possuem também cistídios (Brooks, 1928; Robak, 1942) e que os seus carpóforos podem apresentar vários aspectos. Por razões de ordem morfológica, diversos micologistas europeus já consideravam as duas espécies como idênticas (Bourdot & Galzin, 1928; Donk, 1931; Jorstad, 1937), mas foi Robak (1942) quem se serviu da técnica da anastomose para esclarecer definitivamente a posição taxonómica do *S. rugosiusculum*. Os confrontos realizados entre os haplontes obtidos dos carpóforos do *S. rugosiusculum* enviados do Canadá, aliás morfològicamente idênticos aos exemplares noruegueses do *S. purpureum*, e os haplontes desta última espécie, resultaram sempre positivos. As confrontações entre os respectivos diplontes mostraram-se também compatíveis. Ficou, assim, demonstrada a identidade específica das duas discutidas «espécies».

Dissemos atrás, em pequena nota, que os autores americanos consideram hoje o *Trametes americana* Overh. como sinónimo do *T. odorata* (Wulf.) Fr. e do *T. protracta* Fr. Robak (1942) efectuando confrontos entre os diplontes de três estirpes norueguesas do *T. odorata* com igual número de estirpes canadianas do *T. americana* poude confirmar a coespecificidade das duas espécies, ainda que em três pares das combinações não conseguisse resultado algum, em virtude de se terem verificado os efeitos da autointoxicação do meio que impossibilitaram o encontro dos micélios. Este autor entende, contudo, dever considerar-se o *T. americana* como uma subespécie do

T. odorata. É muito curioso salientar que nas primeiras confrontações realizadas entre as duas espécies, com os respectivos haplontes, os resultados foram completamente negativos.

e) ***Aplicação do método de confronto micelial a agrupamentos de espécies de difícil identificação***

Na determinação de certas espécies de *Drosophila*, em especial do grupo complexo denominado *atomata-prona*, é por vezes bastante difícil uma distinção perfeita das espécies que o constituem, sendo esta baseada apenas nos caracteres morfológicos. Esta dificuldade tem sido experimentada pelos micologistas mais notáveis. A este respeito, QUINTANILHA (1941, 1944) relata um caso ocorrido com ele e ROMAGNESI. Este enviara ao primeiro uma colecção de várias amostras de esporos do grupo *atomata-prona* para proceder ao seu estudo genético, tendo QUINTANILHA verificado a existência de cinco grupos perfeitamente interestéreis. Chamada a atenção de ROMAGNESI para o resultado obtido, poude este estudar atentamente a sistemática do referido agrupamento e descobrir, de facto, nestes cinco grupos os caracteres morfológicos que lhe permitiram distinguir neles a presença de cinco espécies diferentes: *Drosophila prona* (Fr.) Quél. sensu Ricken, non Lange; *D. prona* (Fr.) Quél. sensu Lange non Ricken; *D. atomata* (Fr.) Quél. sensu Lange; *D. trepida* (Fr.) Quél. f. *minor* Lange non Ricken e *D. subtilis* (Fr.) sensu Romagnesi.

Tendo em conta as analogias existentes entre determinadas espécies de *Stereum* [*Stereum purpureum* Pers., *S. rugosum* Pers. e *S. sanguinolentum* (A. et S.) Fr.], ROBAK (1942) empreendeu o confronto, entre os seus diplontes, confirmando serem três espécies distintas.

As confrontações levadas a efeito entre o *S. purpureum* e *S. rugosum* resultaram todas negativas. Nas efectuadas entre o *S. purpureum* e *S. sanguinolentum* não verificou nenhuma anastomose normal ou típica que pudesse constituir prova da sua coespecificidade, mas observou em alguns confrontos um fenómeno semelhante ao descrito por REINHARDT (1892) para espécies diferentes de *Sclerotinia* e interpretado como sendo de antagonismo. Quando as hifas dos dois *Stereum* cresciam

paralelamente, notava-se a formação, por parte do *S. sanguinolentum*, de numerosas ramificações curtas que pareciam envolver a hifa do *S. purpureum*. ROBAK parece ter observado algumas fusões entre estas ramificações haustorioides e as hifas do *S. purpureum*, mas nunca verdadeiras anastomoses entre as diferentes hifas.

Quanto às espécies *S. sanguinolentum* e *S. rugosum*, elas são, com efeito, muito semelhantes e frequentemente confundidas, ocorrendo a primeira nas coníferas, e a segunda nas folhosas. PILAT (1931) admite mesmo que, como consequência desta grande semelhança, as citações feitas àcerca de *S. rugosum* como parasitando as coníferas sejam, na realidade, referentes ao *S. sanguinolentum*. Os confrontos efectuados por ROBAK entre uma estirpe de *S. rugosum* e nove da outra espécie, deram resultados irregulares. Registou-se a ocorrência de quatro confrontos positivos, três negativos e dois duvidosos. Nos casos positivos, observou-se um grande número de anastomoses que não ofereciam um aspecto normal, antes pelo contrário apresentavam um quadro mais ou menos patológico, como este: uma hifa do *S. sanguinolentum* ao cruzar-se com uma do *S. rugosum* anastomosava-se com esta, mas pouco depois partia-se próximo do ponto da fusão. Esta anomalia, conjugada com a observação da presença de diversos fenómenos de antagonismo, permitiu, neste caso particular, julgar que se tratava de espécies diferentes.

Em 1943, NOBLES esclarece-nos a posição taxonómica dos componentes de um complicado agrupamento de Poliporáceas composto pela *Trametes serialis* Fr. e as espécies afins *Poria microspora* Overholts, *P. Sequoiae* Bonar, *P. carbonica* Overholts e *Polyporus palustris* Berk. Esta investigação foi baseada nos caracteres culturais e apoiada pelos estudos de interfertilidade. Até à publicação do referido trabalho, uma determinada podridão cúbica castanha, de importância económica na *Picea sitchensis* (Bong.) Carr. e na *Pseudotsuga Taxifolia* (Lam.) Britt. no Canadá, era atribuída à *Trametes serialis* Fr.. NOBLES, porém, demonstrou pelos estudos culturais e pelos de confronto entre culturas haplontes que o agente causador estava erradamente identificado, pois que esta poliporose era devida à *Poria microspora*, uma espécie nova para a ciência e descrita, pela primeira

vez, por Overholts neste mesmo trabalho de Nobles. De facto, a interesterilidade era absoluta entre a *T. serialis* e a *P. microspora*, bem como as restantes espécies acima mencionadas e com as quais era frequentemente confundida. Aliás, a interesterilidade era também completa quando se combinavam os haplontes destas diversas espécies entre si. É interessante mencionar que, entre as numerosas culturas recebidas por Nobles, para a execução do seu trabalho, figuravam seis que vinham rotuladas com o nome de *Trametes serialis*, e que este autor comprovou pertencerem duas à *Poria microspora* e quatro ao *Polyporus palustris*.

Queremos finalmente referir-nos, em linhas gerais, às conclusões a que chegou Robak (1942) trabalhando com o complexo *Polyporus abietinus* (Dicks.) Fr. [= *Coriolus abietinus* (Fr. ex Dicks.) Quél.]. Esta espécie possui uma grande variação de formas, indo desde um extremo, o himénio poroide *(P. abietinus)*, ao outro em que o himénio se apresenta lamelar ou do tipo irpicoide [*Irpex fuscoviolaceus* (Ehrenb. ex Fr.) Fr.]. Entre estes limites encontram-se formas intermédias. Na América esta variação é muito rica encontrando-se todos os estados intermédios, tornando-se bastante difícil, ou mesmo impossível, definir os limites das diferentes formas. Na Noruega, as formas poroide e irpicoide constituem tipos mais bem definidos. Nos confrontos entre as formas extremas, é frequente a interesterilidade, registando-se a maioria das anastomoses entre culturas obtidas de carpóforos do mesmo tipo morfológico, isto é, verifica-se que a tendência para as fusões está de certo modo ligada com o grau de semelhança existente entre as formas ensaiadas. Robak registou fertilidade entre as formas poroide e lamelar norueguesas servindo-se de diplontes, o que Raestad (1940) não conseguiu, trabalhando com haplontes.

Um caso idêntico se passou também no confronto *Trametes americana* Overh. × *T. odorata* (Wulf.) Fr., em que Robak (1942) apenas obteve anastomoses quando os confrontantes eram diploides.

Haveria, pois, conveniência em se experimentar o método dos confrontos entre diplontes, sempre que os resultados entre haplontes fossem negativos.

Ainda em relação ao *P. abietinus* não devemos deixar de

mencionar um facto deveras interessante. Entre as culturas com que Robak trabalhou, figurava uma obtida de um carpóforo canadiano que lhe fora enviado como sendo do tipo lamelar, mas que este autor e Raestad consideravam como representando uma forma intermédia, pois apresentava um himénio misto do tipo lamelar e poroide. Ora, enquanto os confrontos entre as formas extremas davam resultados irregulares, os efectuados entre esta forma intermédia e as formas poroide e lamelar, tanto norueguesas como canadianas, resultavam sempre positivos. No caso norueguês, segundo Raestad (1940), as duas formas podem ser consideradas como subespécies bem definidas, e Pilat (1940) considera também as formas euro-asiáticas como pertencentes a uma única espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL

Encontram-se registadas no Quadro I todas as espécies que utilizámos nos nossos ensaios, com a indicação da respectiva proveniência. Os números das culturas são os da micoteca do Laboratório de Micologia (LM), do Instituto Botânico da Faculdade de Ciências de Lisboa.

No presente trabalho servimo-nos apenas de culturas diploides, sendo as provenientes de LM obtidas do «tecido» dos carpóforos.

As espécies foram escolhidas de acordo com a sua importância no país, quer pelos estragos causados em árvores e em madeiras de utilização corrente, quer pela frequência com que aparecem, atendendo simultâneamente ao interesse que podiam oferecer na verificação do valor do confronto micelial, como método de identificação; implìcitamente, procurou-se confirmar o postulado da incompatibilidade interespecífica. A fim de satisfazer estes requisitos, utilizámos não só espécies bem distintas dentro do mesmo género, como também outras, bastante semelhantes entre si e por vezes de difícil determinação pelos métodos clássicos baseados na morfologia dos carpóforos, tentando assim obter o esclarecimento da sua categoria taxonómica.

QUADRO I

Espécies	N.º da cultura	Hospedeiro	Localidade	Proveniência
Leptoporus imberbis (Bull.) Quél. . . .	581	—	Inglaterra	FPRL
	663	—	Holanda	CBS
	779	*Fagus* sp.	França	LM
	896	—	Inglaterra	LM
Leptoporus adustus (Willd.) Quél. . . .	661	—	Holanda	CBS
	834	—	Inglaterra	FPRL
Lenzites betulina (L.) Fr.	782	*Fagus* sp.	França	LM
	842	—	Inglaterra	FPRL
L. betulina ssp. *flaccida* (Bull.) B. et G.	930	*Eucaliptus* sp.	Portugal	LM
	999	»	Portugal	LM
Lenzites quercina (L.) Quél.	929	*Quercus Suber*	»	LM
	936	*Eucaliptus* sp.	»	LM
Coriolus versicolor (L.) Quél.	934	*Eucaliptus* sp.	Portugal	LM
	940	Travessa de caminho de ferro	»	LM
Coriolus hirsuts (Wulf.) Quél	737	*Betula* sp.	Canadá	PFES
	890	—	Inglaterra	FPRL
Coriolus unicolor (Bull.) Pat.	587	—	França	LM
	919	—	»	LEB
Xanthochrous Pini (Th.) Pat.	950	*Pinus Pinea*	Portugal	LM
	951	*Pinus Pinaster*	»	LM
Xonthochrous hispidus (Bull.) Pat. . .	623	—	»	LM
	797	*Sophora japonica*	»	LM
Xanthochrous cuticularis (Bull.) Pat. .	650	—	Inglaterra	FPRL

Phellinus fulvus (Scop.) Pat.	848	—	Inglaterra	FPRL
	928	*Prunus Persica*	Portugal	LM
Ganoderma applanatum (Pers.) Pat. . .	967	*Sophora* sp.	Portugal	LM
	970	*Quercus Suber*	»	LM
Ganoderma lucidum (Leys.) Karst. . .	879	No solo	»	LM
	969	*Quercus* sp.	»	LM
Ganoderma resinaceum Boud.	640	*Quercus Suber*	»	LM
	968	*Populus* sp.	»	LM
Gyrophana lacrymans (Wulf.) Pat. . .	643	—	Inglaterra	FPRL
	959	Madeira de casa de habitação	Portugal	LM
Polyporus sulphureus (Bull.) Fr. . . .	795	—	França	LEB
	962	*Eucaliptus* sp.	Portugal	LM
Polyporus frondosus Fr.	606	—	França	LM
Ungulina ochroleuca (Berk.) Pat. . . .	573	*Quercus* sp.	Portugal	LM
	865	*Arbutus Unedo*	»	LM
Ungulina annosa (Fr.) Pat.	845	—	Inglaterra	FPRL

DESIGNAÇÕES:

LM = Laboratório de Micologia, Faculdade de Ciências, Lisboa
CBS = Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn
LEB = Laboratoire d'Essais des Bois, Paris
FPRL = Forest Products Research Laboratory, Aylesbury
PFES = Patawawa Forest Exp. Station, Ontario

Além das razões expostas, acresce mencionar que nenhuma das espécies escolhidas havia sido estudada sob este ponto de vista por qualquer outro autor.

Desta forma trabalhámos com 21 espécies, compreendendo 41 estirpes, entre as quais 23 portuguesas. Não empregámos todas de origem portuguesa, não só porque nos interessava conhecer o comportamento do confronto entre estirpes de países diferentes, como também porque no início deste estudo não dispúnhamos de determinadas culturas que necessitávamos ou, quando existiam, a sua identificação era ainda provisória.

Os meios de cultura para a manutenção do nosso material de trabalho foram o agar simples (Difco) e o de Sabouraud.

Na execução das confrontações, os inóculos eram retirados destas culturas com cerca de 12-15 dias de idade. Na caso de fungos com crescimento lento, era necessário aguardar um período bastante maior de dias, chegando a ser preciso esperar um mês para que a cultura se mostrasse em condições razoáveis para o fornecimento de inóculos.

Se bem que na primeira série geral de confrontações tivéssemos empregado os meios de Sabouraud e agar simples, este último foi o adoptado durante os restantes ensaios de repetição por originar um crescimento satisfatório e dar uma trama esparsa, não prejudicando a observação. Como, porém, alguns fungos em estudo revelassem inaptidão para as fusões ou fraco crescimento neste substracto, fomos levados a realizar as confrontações, nestes casos, em outros meios de cultura. Desta forma, os ensaios foram efectuados empregando também inóculos obtidos dos meios gelosados de Dox, batata e cenoura.

Em seguida apresentamos, dispondo por géneros, as espécies ensaiadas, com algumas referências ao seu interesse para o país e também de ordem sistemática [1].

Género *LEPTOPORUS* Quél.

Entre as diversas espécies deste género, existentes em Portugal, as que oferecem maior interesse para avaliar as anas-

---

(1) Referências obtidas de trabalhos de PINTO-LOPES (1950 e 1952, em preparação).

tomoses, como instrumento de identificação, são o *L. adustus* (Willd.) Quél. e o *L. imberbis* (Bull.) Quél. Com efeito, tratando-se de duas espécies muito semelhantes, torna-se difícil a sua distinção apenas pelos caracteres macroscópicos dos respectivos carpóforos. O *L. adustus* tem além disso, interesse por ser a espécie mais vulgar deste género e por se encontrar com frequência em diversas folhosas, causando uma podridão fibrosa branca.

Género *LENZITES* Fr.

Conhecem-se no nosso país três formas deste género: *L. betulina* (L.) Fr., *L. betulina* ssp. *flaccida* (Bull.) B. et G. e *L. quercina* (L.) Quél. O carácter que distingue as duas primeiras diz respeito à espessura e disposição das lâminas, mas, no entanto, podem observar-se estados intermédios de difícil identificação entre as duas formas extremas; estas foram consideradas por alguns autores como constituindo espécies distintas (ex. Fries, 1838). Achámos, por conseguinte, interessante recorrer ao método de confronto não só para esclarecer a sua posição taxonómica como também para ajuizar do valor deste critério na identificação das formas. Realizámos igualmente confrontações das formas *betulina* e *flaccida* com a *L. quercina*, não porque houvesse qualquer dúvida ou dificuldade quanto à identificação desta, mas para confirmar o postulado de que entre espécies distintas não há anastomoses. Na verdade, a *L. quercina* distingue-se bem das anteriores, possuindo frutificações muito diferentes; os carpóforos apresentam-se geralmente bastante grandes e os tubos são largos e profundos, em geral labirintiformes ou mesmo assemelhando-se aos do género *Trametes*.

No nosso país, a *L. quercina* é a mais vulgar, encontrando-se no eucalipto (onde causa uma podridão lamelar branca), no carvalho (podridão cúbica e lamelar castanha) e nas madeiras em utilização. A *L. betulina* encontra-se com menos frequência do que a sua subespécie *flaccida* e ambas têm por principais hospedeiros: o eucalipto (podridão fibrosa branca), o carvalho, o sobreiro (podridão cúbica castanha) e ainda o castanheiro e amieiro.

Género *CORIOLUS* Quél.

Possuimos na nossa flora micológica quatro espécies deste género, das quais as mais importantes e vulgares são o *C. versicolor* (L.) Quél. e o *C. unicolor* (Bull.) Pat. O primeiro ataca um grande número de folhosas, árvores de fruto, e madeiras em serviço ao ar livre, provocando uma podridão fibrosa branca; é dos Himenomicetas mais frequentes no país. O *C. unicolor*, igualmente bastante frequente, tem sido colhido também em numerosas folhosas; no plátano bastardo causa uma podridão do tipo fibroso branco, enquanto que na azinheira e salgueiro provoca um apodrecimento fibroso amarelo. Ambas as espécies foram já colhidas no pinheiro. O *C. hirsutus* (Wulf.) Quél. é uma espécie muito rara entre nós, pois foi encontrada apenas uma vez, mas em outros países é considerada como bastante prejudicial. Por se tratar de três espécies muito próximas, cuja identificação por vezes é difícil, utilizando sòmente os caracteres dos carpóforos, tivemos interesse em as escolher para os nossos ensaios.

Género *XANTHOCHROUS* Pat.

Várias espécies deste género existem no país, das quais as mais frequentes e importantes são o *X. Pini* (Th.) Pat., o *X. hispidus* (Bull.) Pat. e o *X. cuticularis* (Bull.) Pat.

O *X. Pini*, mais conhecido entre nós por *Trametes Pini* (Thore) Fr., é uma das Poliporáceas mais prejudiciais pelos danos causados nos pinheiros. É um parasita de ferida, que se se desenvolve no cerne das árvores, provocando uma podridão alveolar branca, podendo os alvéolos, num estado mais avançado, coalescer de modo a formar longas galerias. A madeira obtida destas árvores em estado relativamente adiantado de apodrecimento serve quase exclusivamente para lenha, pois, nalguns casos, não se consegue tirar tábuas por o cerne se desfazer na porção central quando serrada.

A identificação desta espécie, em Portugal, torna-se fácil por ser encontrada sòmente nos pinheiros, e a podridão típica do cerne desta árvore ser apenas produzida por ela.

O *X. hispidus*, igualmente muito frequente, ataca choupos, ulmeiros, carvalhos e por vezes sobreiros. Algumas árvores de

fruto, em especial a maceira, e as de ornamentação, entre estas a *Sophora japonica*, são igualmente parasitadas. A podridão causada pode ser do tipo fibroso e amarelo, como acontece na última espécie citada, ou fibroso e branco, como na maceira.

O *X. cuticularis* é vulgar e importante no sobreiro, ocasionando uma podridão fibrosa branca, tendo sido também colhido na azinheira e no amieiro.

Os carpóforos dos dois últimos Himenomicetas dão, às vezes, lugar a dúvidas na sua identificação.

As outras espécies de *Xanthochrous* conhecidas no país, são menos vulgares, mesmo raras, ou de habitat terrestre [*X. perennis* (L.) Pat.], e não têm, para nós, interesse de maior.

Género *PHELLINUS* Quél.

Entre as várias espécies conhecidas na nossa flora micológica, as mais vulgares e de maior importância são, sem dúvida, o *Phellinus fulvus* (Scop.) Pat. e o *Ph. torulosus* (Pers.) B. et G., que por este motivo utilizámos para os nossos ensaios, apesar dos seus carpóforos serem distintos.

O *Phellinus fulvus* é uma Poliporácea das mais frequentes no país. Provoca uma podridão fibrosa branca no lenho de diversas Rosáceas, sendo, por conseguinte, frequente nos pomares mal cuidados, e onde se pode encontrar um grande número de árvores atacadas.

O *Phellinus torulosus* é também muito vulgar entre nós, encontrando-se em algumas fruteiras e em diversas folhosas (eucalipto, carvalho, medronheiro, oliveira, alfarrobeira, amieiro, etc.) onde causa uma podridão alveolar.

Género *GANODERMA* Karst.

Apenas se conhecem em Portugal três espécies deste género: o *G. lucidum* (Leys.) Karst., pouco frequente, parasitando em geral, as raizes ou a região basilar dos castanheiros, carvalhos e nespereiras do Japão; *G. resinaceum* Boud. e *G. applanatum* (Pers.) Pat., vulgares, ambos atacando, na maioria dos casos, o tronco ou o colo de numerosas folhosas e, muito raramente pinheiros. O *G. resinaceum* tem sido encontrado com frequência no sobreiro e na figueira.

O *G. applanatum* forma carpóforos muito diferentes dos

das outras espécies, não havendo, por isso, dificuldade em o identificar. Tem uma crosta muito espessa, não é lacada, e a trama é clara. Já o mesmo não acontece quanto à distinção entre o *G. lucidum* e *G. resinaceum*, visto que a sua principal diferença reside no facto de o carpóforo do primeiro ser estipitado e o de *G. resinaceum* séssil. Acontece, porém, que este carácter é muito variável. Deste modo podemos encontrar uma frutificação que hesitamos em classificar, por nos ser difícil pronunciar se estamos em presença de um carpóforo com pé pequeno, e seria um *G. lucidum*, ou de um carpóforo séssil, mas atenuado num prolongamento estipitiforme, o que nos levaria a identificá-lo como *G. resinaceum*. Quere dizer, quando se estuda uma colecção de carpóforos podemos aí encontrar toda a gama de estados intermédios entre as duas formas típicas extremas. Daqui o interesse em ensaiar, no futuro, a confrontação entre micélios secundários do maior número possível de formas, o que, de per si, contituiria um trabalho à parte e exaustivo. Para um primeiro contacto deste problema, servimo-nos de estirpes pertencentes às duas formas tìpicamente estipitada e séssil.

Apesar do *G. applanatum* ser fàcilmente distinguível das outras duas espécies, utilizámo-lo nos ensaios para efeitos de verificação do método.

Género *GYROPHANA* Pat.

Dentro do sistema de classificação seguido no presente trabalho, o género *Gyrophana* Pat. (= *Merulius* Fr.) pertence à família das Meruliáceas, mas atendendo a que noutros sistemas está incluido nas Poliporáceas, consideramos, para o efeito prático, a espécie ensaiada como um dos Himenomicetas causadores de poliporoses.

A espécie *G. lacrymans* (Wulf.) Pat., mais conhecida por *Merulius lacrymans* (Wulf.) Fr. é, sem dúvida, um dos agentes que mais estragos causam nas madeiras usadas em edificações, em especial nos países de climas frescos como os do norte da Europa e também na zona temperada, diminuindo a sua acção à medida que as regiões são de temperatura mais elevada.

Em Portugal esta espécie tem sido responsável algumas vezes por estragos consideráveis, principalmente em material

de coníferas, e também no de folhosas. É uma poliporose mais frequente do que habitualmente se supõe.

Apesar deste fungo ser muito característico pelas suas frutificações, que normalmente acompanham a podridão, e pelo tipo de apodrecimento que ocasiona (podridão cúbica e castanha), resolvemos utilizá-lo em ensaios, dado o seu interesse económico.

Género *POLYPORUS* Fr.

Das poucas espécies (cinco) que se conhecem da nossa flora micológica, o *P. sulphureus* (Bull.) Fr. é a mais importante, sendo frequente em diversas folhosas, como nos castanheiros, eucaliptos e choupos, encontrando-se também nos carvalhos, plátanos e sobreiros. Os danos causados são sensíveis; em certos países, esta espécie é considerada das mais prejudiciais. Os seus carpóforos são geralmente grandes e moles, com o himénio da cor de enxofre.

O *P. frondosus* Fr. é uma espécie rara entre nós, mas que se distingue bem da anterior; foi escolhida apenas para analizarmos o seu confronto com o *P. sulphureus*.

Género *UNGULINA* Pat.

Dentre as oito espécies existentes no país, a mais vulgar é a *U. fomentaria*, que ataca diversas folhosas e por vezes o pinheiro. Por motivos alheios à nossa vontade, servimo-nos das espécies *U. annosa* (Fr.) Pat. e *U. ochroleuca* (Berk.) Pat. Esta última encontra-se, com frequência, na Serra da Arrábida, parasitando o medronheiro e a urze, mas tem sido também colhida no carvalho, azinheira, lentisco e tojo.

A *U. annosa* é uma espécie considerada, nalguns países, como das mais perigosas, e na Inglaterra é mesmo tida como o agente mais importante da podridão do lenho das coníferas. Em Portugal parece ser frequente nos esteios de pinho empregados nas minas, causando-lhes uma podridão fibrosa branca, aparecendo também em cepos de pinheiro provocando uma idêntica podridão.

Métodos

A técnica que fundamentalmente adoptámos foi a utilizada por Robak (1942) nos seus estudos e que, na maioria dos casos,

satisfez. Consta, essencialmente, na preparação de uma câmara húmida de van Tieghem, onde os inóculos, retirados de culturas em agar simples, são depositados na lamela a uma distância de cerca de 2 a 4 mm um do outro.

O facto de não termos conseguido algumas vezes resultados satisfatórios com a técnica de Robak, levou-nos a modificá-la de maneira a conseguir uma outra mais aconselhável para a execução dos ensaios.

Na maioria dos casos procedemos do seguinte modo: preparada uma câmara de van Tieghem, da maneira usual, cobríamos o fundo da mesma com uma película de água. Na parte inferior da lamela eram colocados pequenos cubos das duas culturas a confrontar, retirados por meio de uma agulha de ponta recurvada, ficando distanciados de 1 a 3 mm, consoante se tratava de espécies de fraco ou bom crescimento. Na colocação dos inóculos tínhamos o cuidado de atender a certos pormenores ditados pela experiência e que a seguir mencionamos: colocar a superfície superior do inóculo contra a lamela, procurando, de preferência, dirigir para o centro o sentido do crescimento do micélio; ao assentar os inóculos, calcular o melhor possível a sua posição definitiva, em especial quando se adoptam intervalos muito pequenos, para evitar que os mesmos fiquem contaminados pelos esporos dos confrontantes (se os produzirem) e que, ao germinar, possam dar origem a confusões e interpretações erradas.

Para segurar a lamela ao anel, aplicou-se neste, em dois pontos diametralmente opostos, uma pequeníssima porção de vaselina, que permitindo o necessário arejamento evitava a indesejável formação da água de condensação na superfície inferior da lamela.

Feita a preparação, a câmara de van Tieghem era introduzida numa placa de Petri, no fundo da qual se havia posto uma rodela de papel de filtro a fim de evitar que aquela escorregasse no fundo da placa.

Nas confrontações que levavam muitos dias ou semanas de observação havia necessidade de, algumas vezes, restabelecer a quantidade de água no interior da câmara, com o fim de evitar que os inóculos secassem.

Nalguns casos tivemos de humedecer o papel de filtro da placa, para melhor garantir a humidade.

Em numerosas confrontações, quer intra quer interespecíficas, quando as culturas empregadas manifestavam uma velocidade de crescimento desigual, tornou-se necessário fazer a deposição dos inóculos em datas diferentes sendo feita a do fungo de crescimento mais rápido sòmente dois a dez dias depois da do outro. Só a experiência de cada caso nos pode aconselhar a adoptar este cuidado e o número de dias de intervalo. A não observância deste pormenor inutilizava frequentemente os confrontos, dado que o micélio da estirpe de melhor crescimento invadia o outro inóculo antes que este tivesse possibilidades de iniciar o seu crescimento.

Para os confrontos mais rebeldes de alguns fungos que se não anastomosavam (*Polyporus sulphureus* e *Ungulina ochroleuca*), ou para tal manifestavam grande dificuldade, ou mesmo se tornava difícil pronunciar-se sobre a autenticidade das anastomoses (as espécies ensaiadas de *Ganoderma* e o *Xanthochrous hispidus*), vimo-nos forçados a introduzir algumas modificações na técnica que acabámos de descrever.

Uma destas modificações consistiu em deixar solidificar um meio gelosado na superfície inferior da lamela e retirá-lo depois, procedendo-se em seguida à colocação dos inóculos. Desta forma a área de crescimento dos confrontantes encontrava-se com vestígios nutritivos, proporcionando desenvolvimento mais favorável e aderência do micélio ao vidro.

Este método, embora tivesse permitido estudar melhor as confrontações do *X. hispidus* e das espécies de *Ganoderma*, não se mostrou completamente favorável para o *Polyporus sulphureus* e *P. frondosus*. Estas duas espécies têm sempre uma grande tendência para desenvolver um micélio pendente dos inóculos, em detrimento de um crescimento horizontal sob a lamela. Por este motivo, procedemos a mais uma variante da técnica já referida, e que consistiu em manter a lamela com os inóculos voltados para cima, no intuito de obrigar o micélio àquele tipo de crescimento. Para que os inóculos não secassem, conservámos estes confrontos sobre varetas ou aneis de vidro dentro de placas de Petri funcionando de câmaras húmidas, e na altura de se fazer a observação microscópica assentávamos

a lamela, com os inóculos para baixo, num anel de van Tieghem. Com esta modificação melhorámos as possibilidades de encontro dos micélios confrontantes, mas os resultados também não satisfizeram completamente.

Qualquer que fosse a técnica adoptada, as observações eram feitas, regra geral, diàriamente, exceptuando nalgumas confrontações de crescimento mais vagaroso em que se faziam com intervalos de dois ou três dias, até que os micélios estivessem prestes a encontrar-se, altura em que passavam a ser examinadas todos os dias. A posição dos primeiros contactos era localizada e a sua evolução acompanhada cuidadosamente com a objectiva de imersão. No exame destas preparações reconhecemos não só vantagem como também necessidade de fazer desenhos esquemáticos, a duas cores, da posição dos micélios em confronto; caso contrário tornar-se-ia muitas vezes difícil ou mesmo impossível seguir o crescimento dos micélios que mùtuamente se aproximavam, ou localizar uma dada fusão sem o receio de se perder no emaranhado micelial, ou ainda ter a certeza da proveniência dos micélios anastomosantes.

Linhell (1939) trabalhando com fungos imperfeitos micorrízicos empregou uma outra técnica que consiste em colocar os dois inóculos a ensaiar numa lâmina e comprimi-los em seguida com a lamela, deixando um pequeno intervalo entre esta e a lâmina.

Realizámos algumas confrontações segundo esta técnica, para espécies de crescimento rápido, conservando as preparações em placas de Petri, com papel de filtro humedecido, a fim de manter o meio gelosado nas melhores condições de frescura durante maior espaço de tempo.

Este método, fundamentalmente muito simples, requer certo treino, pois que ao fazer-se a compressão dos inóculos estes espalham-se irregularmente dificultando mais tarde as observações, e as lâminas de gelose delgadas tendem a secar com mais facilidade, impossibilitando o exame por longos períodos. Além deste inconveniente, há ainda o facto de se formar água de condensação, quer na superfície interior quer na exterior da lamela. Por estes motivos não generalizámos o seu uso nos nossos ensaios.

Experimentámos também uma técnica preconizada por

Davidson, Dowding & Buller (1932) para os confrontos dos dermatófitos. Consta, essencialmente, na preparação de uma câmara húmida de van Tieghem, com uma pequena gota pendente de gelose e sobre a qual se colocam os inóculos a confrontar. Desistimos de empregar esta técnica depois de reconhecer, para o nosso caso particular, os inconvenientes seguintes: observação menos vantajosa através da gelose; excessiva água de condensação; e, quando a observação era prolongada durante vários dias, grande dificuldade em distinguir as anastomoses entre os micélios em confronto com as derivadas das hifas provenientes da germinação dos conídeos, clamidósporos ou oídeos, espalhados na água de condensação.

Recentemente van Uden (1951) delineou, com bons resultados, uma nova técnica para os dermatófitos: a uma placa de Petri junta-se um meio gelosado (Sabouraud) suficiente para cobrir uma lâmina nela contida; solidificado o meio, corta-se e retira-se a gelose sobre a lâmina, a qual é inoculada com os fungos a ensaiar. Estes, crescendo sobre os leves resíduos do meio de cultura, são observados frequentemente até os seus micélios estabelecerem contacto. Nesta fase a lâmina é retirada, corada se for desejado, montada e examinada. Cada preparação presta-se, pois, a uma única observação, quer seja ou não feita na oportunidade devida. Este método, mais laborioso, requer um número relativamente elevado de preparações para cada confronto, pois que a observação preliminar é bastante dificultosa, visto ser feita através da espessura da placa (invertida) e da lâmina, e não haver, portanto, possibilidade de se certificar da ocorrência de anastomoses. Experimentámo-lo em material fácil e ingrato, no sentido das fusões serem ou não fáceis de obter. No primeiro, continuámos a verificar anastomoses e no segundo, as dificuldades mantiveram-se, pelo que, em igualdade de circunstâncias e resultados, demos preferência, nestes ensaios, ao emprego da técnica de Robak, por nós modificada.

No desejo de encontrar uma técnica que resolvesse ainda melhor as dificuldades de certas confrontações, tentámos adaptar a estes ensaios o método de Kühner (1945) utilizado para a observação de crescimento de fungos e seu estudo cariológico. Cedo, porém, verificámos a sua inaplicabilidade para o nosso caso. Consiste esta técnica em estender uma

lâmina de colódio (prèviamente preparada) sobre uma lâmina de vidro com os dois inóculos em confronto, separados por uma gota de Sabouraud. As preparações são guardadas em placas de Petri com papel de filtro humedecido e examinadas regularmente. Na altura propícia (probabilidade de fusões) corta-se a porção de colódio da área onde se suspeita existirem fusões, eliminando todo o resto da preparação, podendo então ser corada. Este método, muito laborioso, foi totalmente rejeitado pelo facto principal de favorecer a mistura de esporos, oídios ou clamidósporos das culturas ensaiadas, e também por a membrana do colódio ser fàcilmente infectada e não poder manter-se fresca durante muitos dias.

Na impossibilidade de efectuar ensaios a temperatura constante, por não termos qualquer dispositivo que tal nos permitisse, vimo-nos forçados, à semelhança do que se verifica, por vezes, em trabalhos desta natureza, a fazer o estudo nas condições da temperatura do ambiente do laboratório.

Em períodos de temperaturas mais baixas e quando se verificava falta de anastomoses entre as hifas dos fungos em confronto, o material era introduzido em estufa para que o crescimento dos fungos se pudesse efectuar a temperatura mais conveniente. Quando, porém, a temperatura do ambiente ultrapassava aqueles valores tidos como os mais próximos do desenvolvimento óptimo dos fungos, não nos foi possível sujeitar, nesses períodos, o material às temperaturas mais convenientes. O facto dos nossos ensaios terem abrangido as diversas épocas do ano permitiu que qualquer experiência de confrontações fosse efectuada durante o período em que teria sido óptima a temperatura do ambiente para o desenvolvimento do fungo. Na realidade, após ter-se verificado a impossibilidade de formação de anastomoses para alguns fungos, fomos conduzidos a ensaiar, nestes casos, outros meios de cultura, o que representa, por isso, várias repetições. Assim, aquele material ingrato para o qual a temperatura poderia ter tido certa influência, tornaria a ser estudado num período tal que, certamente, por algumas vezes, coincidiria com a temperatura óptima para o seu desenvolvimento.

Cada confrontação foi efectuada, de começo, com três repe

tições. Todos aqueles casos em que se não havia notado a formação de anastomoses eram de novo repetidos. Se, nestas condições, continuavam a não formar anastomoses, os novos ensaios passavam a incluir, cada um deles, os diferentes meios de cultura que mencionámos.

O material renitente vem sendo experimentado permanentemente em diversos meios de cultura.

OBSERVAÇÕES

Os resultados relativos aos confrontos efectuados encontram-se, distribuidos por géneros, em Quadros independentes. Nestes, o sinal + representa a formação de anastomoses cuja identificação não ofereceu dúvidas. A este respeito há que chamar a atenção para a frequência de fusões aparentes (principalmente quando observadas a seco com a objectiva 45 ×) que, ao sofrerem vários exames intervalados e aturados com a lente de imersão, se mostraram falsas.

Os resultados de confronto assinalados com ? representam observações feitas em «anastomoses» cuja autenticidade não poude ser garantida não obstante numerosas repetições efectuadas.

Género *LEPTOPORUS* Quél.

Todas as estirpes empregadas tinham um crescimento regular e sensìvelmente igual, exceptuando a do *L. imberbis* 896 que era ligeiramente inferior.

À distância de 2 a 2,5 mm, as anastomoses verificaram-se dentro do período de 7 a 10 dias.

Os resultados dos confrontos realizados entre culturas de diversas proveniências (Inglaterra, França e Holanda) permitiram organizar o Quadro II.

Da análise deste Quadro verifica-se que, das seis estirpes ensaiadas, só uma — a *L. imberbis* (896) proveniente de Inglaterra — não forma anastomoses com nenhuma das cinco restantes e que estas são todas interférteis. Quer dizer, as duas estirpes do *L. adustus* (661 e 834) são interférteis não sòmente entre si, como também com as três culturas (663, 581 e 779) obtidas de carpóforos considerados como sendo do *L. imberbis*

(Figs. 1 a 5). Apenas não nos pudemos certificar do resultado dos confrontos entre as culturas 779 e 834, em virtude da incerteza com que ficámos na interpretação das anastomoses, que todavia nos pareceu terem-se formado, e daí o termos assinalado com o ponto de interrogação; como, porém, 834 é positivo com 581, 663 e 661, e como 779 é positivo com estas mesmas estirpes, é de admitir que entre 779 e 834 os resultados sejam positivos.

QUADRO II

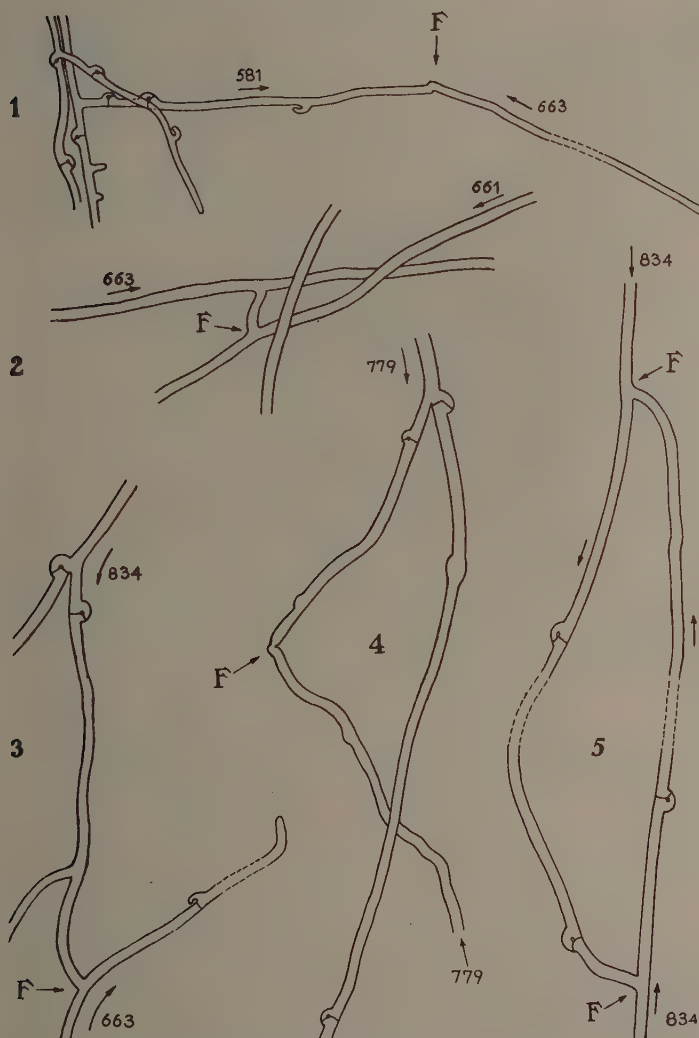
		Leptoporus imberbis				*L. adustus*	
		896	663	581	779	661	834
		Inglaterra	Holanda	França	Inglaterra *Fagus* sp.	Holanda	Inglaterra
L. imberbis	896	+	—	—	—	—	—
	663	—	+	+	+	+	+
	581	—	+	+	+	+	+
	779	—	+	+	+	+	?
L. adustus	661	—	+	+	+	+	+
	834	—	+	+	?	+	+

O *L. imberbis* 896 produz desde muito cedo, numerosos clamidósporos sem formação de oídios, enquanto que as restantes cinco culturas apresentavam raríssimos clamidósporos (e incipientes), sendo, regra geral, abundante a produção de oídios, com excepção do 834.

Género *LENZITES* Fr.

As espécies deste género apresentaram todas bom crescimento, mas, para efeitos de confronto, as duas estirpes de *L. quercina*, as mais lentas, foram colocadas na lamela da câmara de van Tieghem três dias antes, quando ensaiadas com as da *L. betulina* ssp. *flaccida;* as da *L. betulina*, as mais rápipidas, necessitavam de um atrazo de 5 a 6 dias em relação às referidas estirpes de *L. quercina*.

O intervalo mais favorável, para os inóculos em confronto, foi de 1,5 a 2 mm; nestas condições as anastomoses verificaram--se, nos casos compatíveis, em 7 a 10 dias.



Leptoporus. Aspectos de anastomoses miceliais.

Fig. 1 — *L. imberbis* (581 × 663); Fig. 2 — *L. imberbis* (663) × *L. adustus* (661); Fig. 3 — *L. imberbis* (663) × *L. adustus* (834); Fig. 4 — *L. imberbis* (779 × 779); Fig. 5 — *L. adustus* (834 × 834).

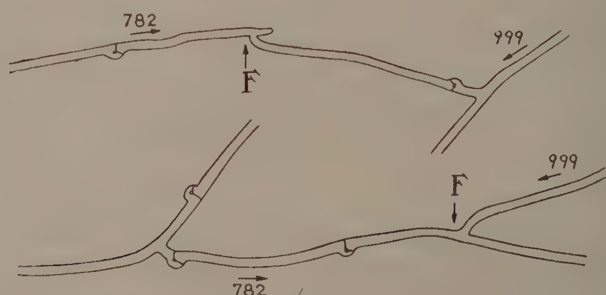
F, ponto de fusão dos micélios confrontantes. × 500.

A distância de cerca de 4 mm empregada no princípio, quando desconhecíamos o nosso material nesse sentido, levava à formação de anastomoses em muito maior número de dias, chegando a 4 semanas.

QUADRO III

		L. betulina		*L. betulina* ssp. *flaccida*		*L. quercina*	
		782	842	930	999	936	929
		França *Fagus* sp.	Inglaterra	Portugal *Eucaliptus* sp.	Portugal *Eucaliptus* sp	Portugal *Eucaliptus* sp.	Portugal
L. betulina . .	782		+	+	+	—	—
	842	+		+	+	—	—
L. betulina ssp. *flaccida* .	930	+	+		+	—	—
	999	+	+	+		—	—
L. quercina . .	936	—	—	—	—		?
	929	—	—	—	—	?	

Os resultados dos confrontos entre as três espécies são apresentados no Quadro III.



Lenzites. Aspectos de anastomoses miceliais.

Fig. 6 — *L. betulina* (782) × *L. betulina* ssp. *flaccida* (999).
F, ponto de fusão dos micélios confrontantes. × 500.

Analisando os resultados inseridos neste Quadro, verifica-se que a *L. quercina* é incompatível com a *L. betulina* e a sua subespécie *flaccida*. Na confrontação das estirpes de *L. quercina* entre si, não pudemos ficar certos de que houve fusão,

motivo porque registámos no Quadro o sinal de interrogação. Parece-nos que esta dificuldade na observação se poderá vencer procurando outros meios de cultura.

Quanto às estirpes das formas *betulina* e *flaccida*, elas mostraram-se perfeitamente interférteis, ainda que provenientes de origem diferente (Fig. 6 e Figs. 1 a 3 da Estampa).

Género *CORIOLUS* Quél.

Todas as espécies deste género apresentam, duma forma geral, bom crescimento e foram, dentre todos os fungos ensaiados, as que deram anastomoses no período mais curto: 3 a 5 dias, com os inóculos distanciados de 1,5 a 2 mm.

QUADRO IV

		C. versicolor		*C. hirsutus*		*C. unicolor*	
		934	940	737	890	587	919
		Portugal *Eucaliptus* sp.	Portugal Travessa de caminho de ferro	Canadá *Betula* sp.	Inglaterra	França	França
C. versicolor .	934		+	—	—	—	—
	940	+		—	—	—	—
C. hirsutus . .	737	—	—		+	—	—
	890	—	—	+		—	—
C. unicolor . .	587	—	—	—	—		+
	919	—	—	—	—	+	

As duas estirpes de *C. unicolor* mostraram uma certa lentidão no seu crescimento em relação às das outras duas espécies, pelo que estava indicada a sua sementeira na lamela dois dias antes da colocação do outro fungo a confrontar. Essas mesmas estirpes reflectiram essa diferença no seu crescimento por anastomoses mais tardias (2 a 3 semanas), atingindo, contudo, o período de 3 a 5 dias quando a distância empregada entre os pares confrontados era de cerca de 1 mm.

Os resultados das confrontações efectuadas entre as três referidas espécies são apresentados no Quadro IV.

Analisando este Quadro, verificamos que as estirpes da mesma espécie são sempre interférteis, ainda que provenientes de países diferentes e longínquos, como mostra a confrontação efectuada entre estirpes do *C. hirsutus* 737 do Canadá e 890 da Inglaterra.

Os confrontos interespecíficos mostraram-se incompatíveis, contudo, notou-se uma grande «tendência» para as hifas confrontantes se contactarem, parecendo por vezes existirem fusões, sem que, no entanto, se tenham efectuado.

Género ***XANTHOCHROUS*** **Pat.**

Dentre os fungos deste género, as espécies *X. Pini* e *X. cuticularis* apresentam um crescimento regular. As estirpes

QUADRO V

		X. Pini		*X. hispidus*		*X. cuticularis*
		950	951	623	797	650
		Portugal *Pinus Pinea*	Portugal *P. Pinaster*	Portugal	Portugal	Inglaterra
X. Pini	950		+	—	—	—
	951	+		—	—	—
X. hispidus . .	623	—	—		?	—
	797	—	—	?		—
X. cuticularis .	650	—	—	—	—	

de *X. hispidus* diferem nìtidamente das outras duas espécies pela sua grande lentidão, o que obrigou à antecedência de 7 a 10 dias a sua sementeira na lamela, quando esta espécie era confrontada com as outras. Mesmo entre as suas estirpes não foi conveniente uma colocação simultânea dos inóculos, visto a estirpe 623 ser sensìvelmente mais lenta que a 797, sendo aconselhável neste confronto uma distância não superior a 1 mm.

As anastomoses entre as duas estirpes de *X. Pini* verificaram-se ao fim de duas semanas, estando os inóculos distanciados cerca de 1 a 1,5 mm.

As confrontações entre as culturas destinadas a estes ensaios permitiram-nos obter o Quadro V.

Continuamos a verificar que os cruzamentos entre espécies diferentes resultam sempre negativos, e que pelo contrário, há interfertilidade quando as estirpes, ainda que de proveniência diferente, são da mesma espécie (*X. Pini*, Fig. 4 e 5 da Est.).

Quanto ao *X. hispidus*, material difícil de trabalhar, o seu crescimento é muito lento e com os meios de cultura de que nos servimos (gelose de Sabouraud e gelose simples), não nos foi possível dizer ao certo se houve ou não anastomose. Nalguns casos pareceu-nos que certos contactos entre as hifas das duas estirpes representavam provàvelmente anastomoses, razão porque apresentámos no Quadro esta observação por pontos de interrogação, mas noutros casos, a maioria, verificámos não ter havido fusões.

Género *PHELLINUS* Quél.

As espécies deste género, ensaiadas, caracterizaram-se por crescimento lento. Destacam-se, quanto a este aspecto, de *Ph. torulosus* 863 e 864 sendo esta última ainda mais lenta, o que

QUADRO VI

		Ph. torulosus		*Ph. fulvus*	
		863	864	928	848
		Portugal *Arbutus Unedo*	Portugal *Arbutus Unedo*	Portugal *Prunus Persica*	Inglaterra
Ph. torulosus .	863		+	—	—
	864	+		—	—
Ph. fulvus . .	928	—	—		+
	848	—	—	+	

determinou, ao estabelecer-se o seu confronto intraespecífico, uma diferença de dois dias na colocação antecipada da cultura 864. Em relação às estirpes de *Ph. fulvus*, a antecedência foi de 5 dias.

À distância entre confrontantes de 1,5-2 mm, as anastomoses observaram-se entre 9 a 12 dias.

Tendo-se procedido à confrontação das duas espécies entre si, obtivemos os resultados que vão inseridos no Quadro VI.

A análise dos resultados obtidos mostra-nos mais uma vez

que estirpes de origem diferente, da mesma espécie, são interférteis quer provenham do mesmo ou diferente país *(Ph. fulvus)*, mas são interestéreis quando pertencem a espécies diferentes.

Realizámos também o confronto intergenérico *Xanthochrous Pini* (951) × *Ph. torulosus* (863 e 864), que resultou negativo. Observámos aqui um fenómeno de antagonismo, semelhante ao descrito por REINHARDT (1892) para certas espécies de *Sclerotinia*, em que as hifas do *Ph. torulosus* (863) pareciam pretender envolver as do *X. pini* (951).

Género *GANODERMA* Karst.

Das espécies ensaiadas, o *G. applanatum* e o *G. resinaceum* possuem um crescimento regular enquanto o *G. lucidum* é bastante lento. A formação de clamidósporos é pronta e abundante nas duas últimas espécies, o que torna muito contingente e delicada a sua utilização no confronto, em especial no caso do *G. lucidum*. As hifas desta espécie, ao fim do sexto ou sétimo dia, encontram-se pràticamente reduzidas a clamidósporos o que limita muito o período de tempo útil para o encontro dos micélios confrontantes. Atendendo a estes factos, a experiência levou-nos a reduzir muito a distância entre os inóculos e a procurar favorecer a continuação do estado micelial. Esta conseguiu-se parcialmente pela técnica da aplicação prévia de vestígios nutritivos.

QUADRO VII

		G. applanatum		*G. lucidum*		*G. resinaceum*	
		970	967	879	969	968	640
		Portugal *Quercus Suber*	Portugal *Sophora japonica*	Portugal No solo	Portugal *Quercus* sp.	Portugal *Populus* sp.	Portugal *Quercus Suber*
G. applanatum	970		+	—	—	—	—
	967	+		—	—	—	—
G. lucidum . .	879	—	—		+	?	?
	969	—	—	+		?	?
G. resinaceum	968	—	—	?	?		—
	640	—	—	?	?	+	

As anastomoses observàram-se dentro de 6 a 7 dias, como não podia deixar de ser, sempre que se tratava de confrontantes com a formação rápida de clamidósporos. A distância empregada era necessàriamente pequena, nunca superior a 1,5 mm.

Quando um dos confrontantes era o *G. lucidum*, o seu inóculo era colocado 3 a 4 dias antes do outro.

Efectuadas as confrontações entre as estirpes da mesma espécie, e entre as pertencentes a espécies diferentes, obtivemos os resultados que vão indicados no Quadro VII.

Da análise deste Quadro verifica-se que as estirpes da mesma espécie são interférteis, e que o micélio do *G. applanatum* não se anastomosa com os do *G. lucidum* ou do *G. resinaceum*. Porém, no confronto das estirpes do *G. lucidum* com as do *G. resinaceum*, as dificuldades em nos pronunciarmos pela formação segura das anastomoses foram muitas. Por esta razão, na dúvida em que ficámos e enquanto este assunto não for esclarecido num trabalho ulterior, preferimos representar os resultados destas confrontações com o sinal de interrogação não obstante julgarmos, com bastante probabilidade, ter havido anastomoses em vários confrontos efectuados. As estirpes 879 e 969 de *G. lucidum* decerto dificultaram estes ensaios por terem crescimento vagaroso e formarem clamidósporos muito cedo, pelo que, pràticamente, deixava de haver mais desenvolvimento.

Género *GYROPHANA* Pat.

Ambas as estirpes desta espécie (643, da Inglaterra e 959, de Portugal) possuem igual crescimento, que foi satisfatório nos meios utilizados. O facto da temperatura óptima desta espécie se encontrar à volta de 23° C e o seu máximo a 25--26° (Cartwright & Findlay, 1946) fez com que se evitasse a realização dos ensaios nos períodos mais quentes do ano.

No meio gelosado de Sabouraud, agar simples, Dox e batata, as estirpes do *G. lacrymans* mostraram-se rebeldes a anastomosarem-se nos contactos observados em numerosos e repetidos ensaios de confrontações.

Ao empregar, porém, a gelose de cenoura como meio de cultura conseguimos observar algumas anastomoses entre as duas estirpes logo na primeira série de confrontos.

As fusões efectuaram-se ao fim de 10 dias, com inóculos distanciados 2 mm.

QUADRO VIII

		G. lacrymans 643 Inglaterra	*G. lacrymans* 959 Portugal Madeira de casa de habitação
G. lacrymans . .	643		+
	959	+	

Género *POLYPORUS* Fr.

As duas estirpes do *Polyporus sulphureus* possuem bom crescimento (a estirpe 797 ligeiramente inferior à 962), mas a do *P. frondosus* é menor, razão porque nos confrontos intra-específicos colocámos o inóculo 795 na lamela com uma antecedência de dois dias, e nos confrontos interespecíficos o inóculo 606 foi colocado com uma antecipação de seis dias.

QUADRO IX

		P. sulphureus 962 Portugal *Eucaliptus* sp.	*P. sulphureus* 795 França	*P. frondosus* 606 França
P. sulphureus . .	962		—	—
	795	—		—
P. frondosus . .	606	—	—	

Infelizmente todas as tentativas feitas neste trabalho, no sentido de obtermos preparações convenientes à observação de anastomoses entre duas estirpes do *P. sulphureus*, foram infrutíferas, isto é, os confrontos resultaram sempre incompatíveis em qualquer dos cinco meios de cultura.

Como o micélio das culturas ensaiadas, sob a lamela, se torna pendente desde muito cedo e o pouco que se mantem

aderente ao vidro acaba por se desprender pelo próprio peso, as possibilidades do seu encontro ficam muito reduzidas. Por este motivo tivemos de adoptar técnicas apropriadas a este caso particular. As que melhor satisfizeram foram as seguintes: colocação dos inóculos na face superior da lamela e a técnica de colocação na face inferior, após aplicação de vestígios alimentares. A distância entre os inóculos, para a primeira das referidas técnicas foi de 4 mm, e de 2-3 mm para a segunda.

Género *UNGULINA* Pat.

No desejo, ainda, de alargar a experimentação do critério das anastomoses a mais espécies doutros géneros, procedemos a confrontações entre as espécies *U. ochroleuca* e *U. annosa*. De uma forma geral, as estirpes ensaiadas apresentaram-se muito lentas no seu crescimento.

QUADRO X

		U. ochroleuca		*U. annosa*
		573	865	845
		Portugal *Quercus* sp.	Portugal *Arbutus Unedo*	Inglaterra
U. ochroleuca . .	573	—	—	
	865	—		—
U. annosa . . .	845		—	—

Das duas espécies, a última era sensìvelmente mais rápida que a estirpe 573 de *U. ochroleuca*, mas diferindo pouco em relação à 865. Por este facto, nos confrontos de 573 com as outras duas culturas, empregou-se um avanço de 3 dias na colocação daquela estirpe na lamela, ficando os inóculos distanciados cerca de 1 a 1,5 mm.

Estabelecidos os confrontos, elaborámos o Quadro X.

Nas confrontações entre as duas estirpes de *U. ochroleuca* o crescimento foi tão escasso que houve fraca oportunidade dos seus micélios estabelecerem contacto, e os poucos que se registaram não formaram anastomoses. O mesmo aconteceu aos confrontos interespecíficos.

Efectuados os diferentes ensaios de confrontação e examinado o conjunto dos resultados, sobressaem as seguintes observações gerais:

É variável, consoante as espécies, a maior ou menor facilidade com que se efectuam as anastomoses, não só entre os micélios em confronto, como também entre os do mesmo inóculo, onde, em geral, é mais frequente.

De entre as espécies ensaiadas, as que se mostraram com maior facilidade para as fusões foram a *Lenzites betulina* (L.) Fr. e a sua subespécie *flaccida* (Bull.) B. et G., as três espécies de *Coriolus*, o *Leptoporus adustus* (Willd.) Quél. e o *Xanthochrous Pini* (Th.) Pat.; com menor facilidade, as três espécies de *Ganoderma*, as duas de *Phellinus* e o *Gyrophana lacrymans* (Wulf.) Pat. As estirpes das espécies *Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr. e *Ungulina ochroleuca* (Berk.) Pat. revelaram-se rebeldes.

Verificámos também que as culturas, quando muito vigorosas, não mostram grande tendência para as anastomoses, sendo estas mais frequentes quando o vigor começa a declinar. Este facto está de acordo com as observações anteriores de LINHELL (1939) feitas em Deuteromicetas micorrízicos, e por ROBAK (1942) nas Poliporáceas, onde chegou a utilizar culturas com alguns meses de idade, como no caso da *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr.

Nas confrontações rebeldes, não pudemos averiguar, na maioria dos casos, se se tratava de uma questão de técnica, de meio de cultura, ou, ainda, dalgum efeito de autointoxicação, como supõe ROBAK nos confrontos verificados entre diversas culturas de *Trametes odorata* (Wulf.) Fr. Nestes casos os micélios ou não chegaram a encontrar-se, ou, quando o faziam, as «anastomoses» não puderam ser classificadas de verdadeiras.

O período de tempo decorrido entre as inoculações dos confrontantes e a observação de anastomoses, variou segundo as espécies ensaiadas e a distância entre os inóculos. Nos casos favoráveis foi entre 3 a 10 dias, e nos outros, após um número de dias bastante maior, foi até 4 semanas.

Sem entrar em conta com os numerosos ensaios preliminares a que o desconhecimento do material obrigou, efectuou-se um total de cerca de 800 confrontos.

CONFRONTAÇÕES REALIZADAS ENTRE MICÉLIOS ISOLADOS DE CERTAS POLIPOROSES E OS DAS CULTURAS DA MICOTECA

Como estas poliporoses tinham bem patente os carpóforos, que eram dos casos de fácil determinação, não havia necessidade de se proceder ao confronto. Mas, a título de aplicação do método de anastomoses, procurámos averiguar se os isolamentos obtidos eram interférteis com as culturas que possuíamos destes fungos, facto que pudemos confirmar. Os confrontos foram todos realizados com culturas de duas semanas de idade, em gelose simples. Havia a notar que os isolamentos alcançados tinham um vigor sensìvelmente maior do que as estirpes com as quais foram ensaiados.

Pinheiro bravo atacado pelo *Xanthochrous Pini*

O isolamento deste fungo de um pinheiro abatido havia dois meses, fez-se sem dificuldade em gelose de Sabouraud, realizando-se depois repicagens para a gelose simples.

As confrontações levadas a efeito entre esta cultura e a estirpe 951 do *X. Pini*, obtida também de *Pinus Pinaster* Sol., deram resultados positivos e o mesmo aconteceu empregando a estirpe 950 proveniente de *P. Pinea* L.

Cepo de carvalho atacado pela *Lenzites betulina*

A cultura pura do fungo foi igualmente obtida com facilidade do lenho atacado, não obstante o material ter sido colhido

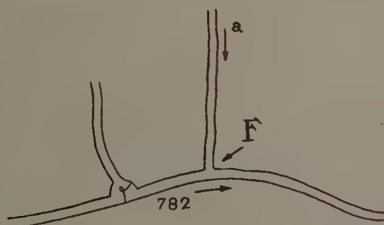


Fig. 7 — Uma anastomose entre a *Lenzites betulina* (782) e a cultura *(a)* isolada de uma poliporose de carvalho. ×500.

havia 13 meses e mantido no Laboratório. Dos confrontos realizados entre este isolamento e as culturas 782 e 842 da

L. betulina, respectivamente de origem francesa e inglesa, observámos também, em poucos dias, anastomoses entre os seus micélios (Fig. 7).

Cepo de eucalipto atacado pela *Lenzites quercina*

Semelhantemente ao caso anterior, o isolamento do fungo responsável por esta poliporose foi realizado cerca de um ano após a colheita do cepo. Efectuadas as confrontações com uma estirpe conhecida da *L. quercina* (936), pudemos verificar a compatibilidade entre as culturas.

DISCUSSÃO

Ao ler-se a bibliografia que diz respeito aos trabalhos de anastomoses nos Himenomicetas, pode concluir-se que toda ela assenta no seguinte «postulado»: só é possível a fertilidade quando se trata de formas pertencentes à mesma espécie. Este postulado engloba qualquer dos estudos dos micélios em confronto.

Como excepção, tem sido apontado um caso de cruzamento intergenérico obtido por Routien (1940) entre *Naucoria semiorbicularis* (Fr.) Quél. e *Annelaria separata* (Fr.) Karst. Ora, verifica-se que em quatro confrontações, dentre as 24 realizadas por este autor, se observaram apenas uma a três ansas de anastomose. Este facto só por si faz considerar sob reserva os resultados conseguidos, uma vez que numa série com tão numerosa repetição, eles se mostravam tão irregulares e, quando positivos, o número de ansas era tão diminuto. Nada nos impede de crer que um dos confrontantes se comporte como um daqueles fungos que apresentam raras ansas de anastomose no estado haploide (Vandendries, 1933; Kemper, 1937; Robak, 1942; etc.), e não nos surpreenderia mesmo se a observação em igual número de culturas monospóricas (ensaios testemunhas que o autor parece não ter realizado) revelasse a ocorrência de ansas na mesma frequência do que a observada no confronto intergenérico.

Por sua vez, o híbrido interespecífico, de *Panaeolus campanulatus* Fr. ex L. × *P. fimicola* Fr., anunciado por Vandendries em 1923a, ainda citado na literatura micológica (Routien,

1940; Buller, 1941; Winge, 1942; Nobles, 1943; Quintanilha & Pinto-Lopes, 1950) apesar de negado mais tarde pelo próprio autor (Vandendries, 1933), é um caso típico de conclusões erradas tiradas por falta de ensaios testemunhas: Vandendries verificou o aparecimento de raras ansas de anastomose nas culturas monospóricas dos confrontantes tal qual como no suposto dicarionte observado em 1923.

Aquele «dicarionte» obtido por Routien assemelha-se muito, pela raridade de ansas, a este descrito por Vandendries, diferindo assim fundamentalmente dos micélios dicariotizados observados nos confrontos intraespecíficos, os quais apresentam numerosas ansas. Este facto reforça a nossa dúvida sobre a autenticidade do «híbrido» de Routien.

A propósito desta questão queremos referir-nos à técnica universalmente adoptada no confronto entre haplontes da mesma espécie.

Estes confrontos, efectuados segundo uma técnica idêntica à utilizada para a determinação da forma de heterotalismo, têm sido quase [1] exclusivamente realizados entre haplontes de Himenomicetas heterotálicos com ansas de anastomose, onde a presença deste tipo de micélio é tomada como indicativo da interfertilidade. É, portanto, por observação indirecta que se determina ter havido anastomose entre as culturas. Existe, porém, a possibilidade, embora rara, da passagem espontânea do estado primário ao secundário — hetero-homotalismo (Hanna, 1925; Chow, 1934; Vandendries, 1925 a, 1925 b; Newton, 1926; etc.), o que, não só limita os trabalhos desta natureza a espécies heterotálicas com ansas, como ainda nesses casos é necessário usar de precaução na interpretação de resultados.

O método por nós adoptado não sofre limitação alguma quanto ao material de estudo, pois é também aplicável aos confrontos de espécies heterotálicas sem ansas (no nosso caso as espécies de *Xanthochrous*, *Phellinus*, o *Polyporus sulphureus* e a *Ungulina annosa*) e às homotálicas, e quaisquer irregularidades da natureza acima apontada não interferem na interpre-

---

[1] Nos casos em que se utilizou esta técnica para espécies sem ansas, a fertilidade foi revelada pela presença de artículos dicarióticos (Brunswik, 1924; Chow, 1934; Vandendries, 1937; Yen, 1948).

tação dos resultados, visto a formação de anastomoses entre os confrontantes ser de observação directa.

Pelo exposto, é de aconselhar, em futuras tentativas de hibridação que, nos casos de obtenção de micélios dicarióticos pelo método usual de confrontações entre haplontes, se façam sempre ensaios testemunhas e se confirme o cruzamento pela observação de anastomoses.

Nos ensaios de confrontações interespecíficas por nós realizados (*Leptoporus imberbis* × *L. adustus*; *Lenzites betulina* × *L. quercina*; *L. betulina* ssp. *flaccida* × *L. quercina*; *Coriolus versicolor* × *C. hirsutus*, *C. versicolor* × *C. unicolor*, *C. hirsutus* × *C. unicolor*; *Xanthochrous Pini* × *X. hispidus*, *X. Pini* × *X. cuticularis*, *X. hispidus* × *X. cuticularis*; *Ganoderma applanatum* × *G. lucidum*, *G. applanatum* × *G. resinaceum*; *Phellinus torulosus* × *Ph. fulvus*; *Polyporus sulphureus* × *P. frondosus* e *Ungulina annosa* × *U. ochroleuca*), não registámos caso algum de fertilidade. O mesmo aconteceu com a confrontação intergenérica *Phellinus torulosus* × *Xanthochrous Pini*, como era de prever. Realizámo-la, todavia, para mais uma confirmação do princípio da incompatibilidade entre espécies distintas. Havia neste caso o interesse de se tratar de dois géneros próximos, tanto assim que o *X. Pini*, segundo o sistema de PILÁT (1936), é designado por *Phellinus Pini*.

Sistemas	Nomes específicos		
PATOUILLARD	*Xanthochrous Pini*	*Xanthochrous hispidus*	*Xanthochrous cuticularis*
FRIES	Trametes Pini	Polyporus hispidus	Polyporus cuticularis
QÉLET	Trametes Pini	Inodernus hispidus	Inodernus cuticularis
PILÁT	Phellinus Pini	Inonotus hispidus	Inonotus cuticularis

Ainda a propósito de confrontos intergenéricos devemos chamar a atenção para o facto de que alguns dos nossos confrontos interespecíficos poderiam ser considerados como intergenéricos se tivéssemos adoptado outros sistemas de classificação. Assim, por exemplo, nos confrontos entre as três espécies de

Xanthochrous (no sentido de Patouillard, 1900) este facto pode ser verificado pela observação do Quadro acima apresentado.

A divergência entre os sistematas mostra bem a subjectividade de critério na escolha dos caracteres distintivos, tanto para géneros como para espécies.

Não é portanto de admirar que em tanto material empregado tivéssemos, no caso das três estirpes de *Leptoporus imberbis* (Quadro II), de nos inclinar para a possibilidade de estarem mal identificadas.

Desta forma, nos confrontos positivos de *L. imberbis* (581, 779 e 663) × *L. adustus* (661 e 834), tivemos de considerar as duas hipóteses: tratar-se de estirpes de uma mesma espécie, ou encontrarmo-nos perante um caso de fusão entre hifas de espécies distintas.

A verificar-se a primeira hipótese e em face do postulado da especificidade, haveria que aceitar, na origem, erros de determinação dos carpóforos, perfeitamente admissíveis visto tratar-se de espécies fàcilmente confundíveis. A anastomose revelava, neste caso, a completa identidade das estirpes em questão. Vimos como pela técnica do confronto alguns autores puderam concluir que espécies tidas como diferentes eram afinal idênticas. Tal facto passou-se, nas confrontações entre haplontes, com o *Fomes marginatus* e *F. pinicola* (Mounce, 1929), *Lenzites trabea* e *L. thermophila* (Mounce & Macrae, 1936), *Coprinus fimetarius* e *C. radiatus* (Quintanilha, 1944), e entre diplontes com o *Stereum purpureum* e *S. rugosiusculum* (Robak, 1942), *Trametes americana* e *T. odorata* (Robak, 1942). Nobles (1943), para o seu trabalho sobre um grupo complexo a que pertence o *Trametes serialis*, recebeu de diversas origens numerosas culturas deste fungo entre as quais seis mal identificadas, que provou serem duas de *Poria microspora* e quatro de *Polyporus palustris*.

O facto de, neste caso, termos observado uma anastomose normal, indica nos a identidade específica das culturas em confronto, e quanto saibamos, conhecemos só um único exemplo de fusão entre hifas de espécies diferentes, continuando estas espécies a ser consideradas como distintas; referimo-nos à confrontação entre uma estirpe do *Stereum rugosum* e nove de *S. sanguinolentum*, descrita por Robak (1942). Dos cruzamentos

estabelecidos resultaram três positivos, quatro negativos e dois duvidosos. Muitas das fusões registadas nos três casos positivos exibiram aspectos patológicos, tais como quebra da hifa próximo do ponto da fusão, e fenómenos de antagonismo. Ora nas nossas confrontações das estirpes 663, 581 e 779 do *L. imberbis* com as 661 e 834 do *L. adustus*, estes factos não foram observados, nem tão pouco se obtiveram resultados negativos, pelo que se nos afigura tratar-se, como dissemos, de cinco estirpes da mesma espécie.

A segunda hipótese, fusão entre hifas de espécies diferentes, não nos pareceu provável, em vista não só do que experimentalmente se sabe hoje sobre a hibridação nos Himenomicetas, como ainda pelo apoio que tem a primeira hipótese, isto é, serem espécies fàcilmente confundíveis e existirem os vários exemplos, acima citados, de fertilidade entre supostas espécies diferentes.

No final das nossas observações tivemos conhecimento de que um estudo mais pormenorizado dos carpóforos, a partir dos quais se obtiveram os isolamentos 581 e 779, tinha levado a identificá-los de preferência como *L. adustus* em vez de *L. imberbis* (Pinto-Lopes, comunicação verbal). Verificámos, portanto, que esta alteração se justapõe aos nossos resultados e apoia o conceito geral de que as anastomoses se formam apenas entre estirpes da mesma espécie. Por idêntico raciocínio, somos levados a supor, da mesma forma, que a cultura 663 não pertence à espécie *L. imberbis*, mas sim à *L. adustus*. Assim, quanto a nós, das seis estirpes ensaiadas, apenas a 896, proveniente do Forest Products Research Laboratory (Aylesbury, Inglaterra), pertence à espécie *L. imberbis*.

Em face do exposto, parece poder concluir-se que o critério de confronto entre micélios secundários se mostra útil na identificação do *Leptoporus adustus* e do *L. imberbis*, sempre difíceis de identificar pelos métodos clássicos da sistemática.

Nobles (1948) afirma poder distinguir o *Polyporus adustus* Fr. (= *Leptoporus adustus* Quél.) do *P. fumosus* Fr. (= *Leptoporus imberbis* Quél.) pelos caracteres culturais: em *P. fumosus* haveria numerosos clamidósporos, enquanto que *P. adustus* não teria clamidósporos, mas oídios. As nossas observações em anel de van Tieghem, utilizando o meio de Sabouraud e de

agar simples, concordam de perto com as de NOBLES, pois que verificámos clamidósporos muito abundantes no *L. imberbis* 896, mas raríssimos no *L. adustus*. Em todo o caso não será muito seguro confiar inteiramente apenas neste caracter.

Àcerca das confrontações dos Himenomicetas nas suas relações com a sistemática, já QUINTANILHA (1941) dizia: «Até hoje nunca tivemos quaisquer divergências com os naturalistas que trabalham em colaboração conosco. Sempre que nós afirmamos que tais e tais esporos produziam haplontes interestéreis os sistemáticos conseguiram encontrar os caracteres morfológicos que permitiam a distinção em espécies diferentes».

Os resultados negativos por nós obtidos nos confrontos de dicariontes das estirpes de *Lenzites quercina* com as de *L. betulina*, e entre *L. quercina* e a *L. betulina* ssp. *flaccida*, fortalecem a ideia de que estirpes de espécies diferentes não se anastomosam. Mas, já os confrontos positivos alcançados entre a *L. betulina* e a sua subespécie *flaccida* nos levam a confirmar que se trata da mesma espécie e não de espécies distintas, como são consideradas, por exemplo, no sistema de FRIES (ver PILÁT, 1936). Esta interfertilidade verificou-se mùtuamente entre as duas estirpes portuguesas, a francesa e a inglesa. É claro, o método da anastomose em si não nos dá qualquer indicação quanto à categoria taxonómica dos confrontantes, mas, no caso presente, a obtenção de resultados positivos aliada às diferenças morfológicas dos carpóforos permitem supor, na verdade, que um dos fungos seja considerado subespécie do outro (BOURDOT & GALZIN, 1928), ou duas formas da mesma espécie, como pretende PILÁT (1936). Do mesmo modo como se admite que o isolamento reprodutor entre estirpes da mesma espécie possa ser o início da constituição de novas espécies (QUINTANILHA, 1941), assim, também aqui não nos repugna aceitar que verificada já a diferenciação morfológica, estes fungos venham a ser considerados como espécies distintas no dia em que se verificar o seu isolamento fisiológico.

Outro caso semelhante foi por nós observado no género *Ganoderma*, em que a conclusão que pudemos tirar quanto às espécies ensaiadas foi a seguinte: entre espécies morfològicamente distintas pelos seus carpóforos, a anastomose não se dá. Por outro lado, a própria hesitação que tivemos em reco-

nhecer se houve ou não fusão entre micélios de espécies cujos carpóforos são com frequência morfològicamente difíceis de diferençar (*G. lucidum* e *G. resinaceum*), vem comprovar a estreita afinidade existente entre elas. PILÁT (1936) já pretendeu considerá-las como formas da mesma espécie. HEIM (1947), porém, diz poder distingui-las pelo seu comportamento cultural macroscópico, o que parece não ser um critério muito seguro (MAUBLANC, 1948). Em virtude das nossas observações não nos terem permitido formular opinião segura no sentido da efectivação das anastomoses entre as espécies *G. lucidum* e *G. resinaceum*, não nos foi possível esclarecer a identidade ou desigualdade específica, mas estamos convencidos que uma melhoria a introduzir na técnica, permitir-nos-à resolver no futuro, estas dúvidas de sistemática.

É frequente a incerteza com que se fica quanto à autenticidade de algumas anastomoses nas confrontações, e casos houve, como nos confrontos entre as mencionadas espécies de *Ganoderma*, entre as estirpes do *Xanthochrous hispidus* e na *Lenzites quercina*, em que nenhuma das «fusões» miceliais observadas poude ter a garantia de uma anastomose perfeita. Tal dificuldade já tinha sido notada por ROBAK (1942). Este, confrontando dez estirpes, entre si, de *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr., obteve um quadro de cruzamentos onde figurava grande maioria de pontos de interrogação, conseguindo apenas observar anastomoses evidentes em catorze confrontações diferentes.

Dada a natureza extremamente duvidosa do cruzamento descrito por ROUTIEN, e apoiados no número avultado de experiências conduzidas por diversos investigadores e por nós (com o fim de alcançar as hibridações interespecífica e intergenérica que resultaram sempre negativas), podemos afirmar que se mantem o postulado de VANDENDRIES, o qual admite implìcitamente a não existência de hibridação nos Himenomicetas.

O exame dos resultados de confrontos nos nove Quadros de observações apoia o postulado de especificidade, pois só se observou compatibilidade entre estirpes pertencentes à mesma espécie, qualquer que fosse a sua origem (país ou hospedeiro).

Enquanto a experimentação não demonstrar a inexactidão do referido postulado, este indica um caminho que se pode mostrar bastante vantajoso na determinação das espécies, prin-

cipalmente em todos os casos em que a identificação, apoiada nos caracteres morfológicos e nas características culturais, não se mostra suficientemente segura.

Um problema, porém, vem perturbar um tanto as possibilidades destes estudos micológicos, trazendo uma limitação na identificação de espécies: é o facto de, algumas vezes, não se verificarem anastomoses entre estirpes da mesma espécie (entre haplontes: Barnett, 1937; Biggs, 1937; Macrae, 1941; Mounce & Macrae, 1938; Vandendries, 1924, 1927 a, b, 1929; entre diplontes: Robak, 1942, e nossos resultados com o *Polyporus sulphureus* e a *Ungulina ochroleuca* — Quadros IX e X). Se é possível dizer-se, pelos estudos da confrontação, que dois fungos são da mesma espécie quando formam anastomoses, o inverso porém não se pode garantir, isto é, dois fungos que não formam anastomoses podem pertencer à mesma espécie. É preciso, portanto, cuidado na interpretação dos resultados negativos. Robak (1942), utilizando outras espécies, chegou a idêntica conclusão.

Esta limitação em nada implica com a doutrina que, admitindo a fertilidade intraespecífica, se mostra contudo um valioso auxiliar ou mesmo aferidor dos estudos sistemáticos.

Ao problema suscitado pela ausência de anastomoses entre estirpes da mesma espécie, duas explicações se apresentam naturalmente: ou se trata de uma incompatibilidade genética ou de uma deficiência de técnica.

No primeiro caso o isolamento reprodutor pode ter um significado evolutivo. A especulação sobre o mecanismo que leva a este isolamento não cabe no âmbito do presente trabalho, nem possuímos elementos para o discutir. Que tal fenómeno evolutivo se possa dar não há dúvida e a literatura sobre a existência destes casos não é pobre (Mounce & Macrae, 1938; Vandendries, 1924, 1927 a, b, 1929; Barnett, 1937; Biggs, 1937 e Macrae, 1941). Em relação a este assunto, pudemos verificar nas três espécies ensaiadas de *Coriolus*, possuindo carpóforos bastante semelhantes, uma forte tendência para as fusões sem que, todavia, estas se efectuassem. Não é fácil interpretar este facto, mas poderíamos, talvez, considerar tal comportamento, no caso particular das três espécies, como indício de um isolamento fisiológico recente. Seria de admitir que, em tais casos,

o isolamento se não fizesse bruscamente, isto é, que entre a compatibilidade e, por assim dizer, a completa indiferença «quimiotáctica», haveria casos de transição.

No segundo caso — fungos potencialmente compatíveis — há, evidentemente, que aperfeiçoar a técnica. Aqui, as nossas observações e experiência adquirida ao abordar este campo tão pouco explorado, permitem também iniciar uma discussão e apresentar algumas sugestões.

As numerosas experiências preliminares sobre distâncias entre inóculos e diferenças nas datas da sua colocação na câmara de confronto, foram guiadas apenas pela convicção de que muitos casos negativos de confrontação eram derivados mais da falta de *oportunidade* oferecida aos fungos do que da sua incapacidade genética.

O êxito obtido em diversos confrontos confirma a exactidão deste nosso ponto de vista, e cremos que poderíamos ter abrangido ainda mais casos se se conseguisse afinar ao máximo este aspecto técnico. Julgamos mesmo ser possível a obtenção de anastomoses dentro de um período curto, tanto nos fungos de rápido crescimento como nos lentos.

Haja em vista o caso da anastomose observada em 4-5 dias no *Coriolus unicolor* devido a uma ligeira modificação na distância entre os inóculos (cerca de 1,5 mm), enquanto que o intervalo de 2,5 mm só permitia a observação de fusões ao fim de duas a três semanas. Facto semelhante se deu na confrontação entre as duas estirpes da *Lenzites betulina* ssp. *flaccida*, em que as anastomoses se verificaram em cerca de quatro semanas, com os inóculos distanciados aproximadamente 4 mm, e dentro de 7 a 10 dias quando os confrontantes se encontravam distanciados 1,5 a 2 mm.

A oportunidade para um confronto é uma resultante de vários factores, dos quais interessa examinar de perto alguns que, através da nossa experiência, fomos levados a considerar como muito importantes.

Assim, a distância entre os confrontantes, de cerca de 2-4 mm, recomendada por Robak (1942) satisfez em muitos casos. Para outros, de fungos de fraco crescimento (por exemplo, *Xanthochrous hispidus*, *Ganoderma lucidum*, *G. resinaceum*, *Ungulina ochroleuca* e *U. annosa*), raras vezes os micélios che-

gavam a estabelecer contacto, e, quando o faziam (o que podia demorar mais de três ou quatro semanas), já o crescimento nessa altura se encontrava imobilizado por secagem da gelose; uma câmara húmida bem vedada era inconveniente para a observação e mesmo que o não fosse não bastaria para, em períodos longos, contrabalançar o fenómeno da sinérese manifestado pelos meios gelosados. A diminuição do intervalo entre os inóculos confrontantes para cerca de 1 mm, foi a solução.

Para os casos de diferenças de vigor, bastante frequente no material ensaiado, em especial nas confrontações interespecíficas, estava indicada a colocação antecipada, na câmara do confronto, do bionte menos vigoroso, a fim de que o encontro dos dois micélios se fizesse num ponto relativamente afastado do primeiro inóculo; caso contrário as anastomoses que viriam a formar-se dificilmente poderiam ser observadas e muito menos verificada a sua autenticidade.

Ainda dentro da expressão «oportunidade» deve poder englobar-se outro factor que, se por um lado parece induzir a formação de anastomoses, por outro facilita o seu exame. Referimo-nos ao emprego de um meio pobre na produção de hifas de vigor satisfatório e ao mesmo tempo suficientemente esparsas, condições ideais para uma boa observação. Esta circunstância, apesar de reduzir o número de contactos de hifas, apresenta vantagens sobre os meios que induzem um crescimento vigoroso e abundante, onde o emaranhado é de tal ordem que, mesmo se as anastomoses fossem frequentes, a sua observação não seria possível pelos menos no que diz respeito ao rigor exigido nestes trabalhos. A gelose simples, recomendada para o efeito por Linhell (1939) e Robak (1942), satisfez-nos na grande maioria dos casos.

Evidentemente, para os fungos de difícil cultura em meio artificial, a composição adequada do meio gelosado, é factor tão importante como qualquer dos já citados, pois sem crescimento perceptível — primeira condição para que possa haver anastomoses — os outros elementos de pouco valem.

Qualquer dos factores, acima mencionados, deve ser considerado devidamente em trabalhos de diagnose, e uma micoteca para satisfazer quanto possível esta finalidade deve possuir os dados necessários em relação às suas culturas, para que o con-

fronto com o Himenomiceta responsável pela poliporose a identificar se faça no prazo mais curto e com um mínimo de ensaios. É muito importante esta consideração se desejarmos que o método se torne de utilização corrente. Nestes casos há que entrar em conta com o vigor característico manifestado pelos fungos isolados recentemente e cultivados pela primeira vez em meios artificiais (os nossos ensaios de aplicação).

Além dos factores citados, compreendidos no termo «oportunidade» e que podemos designar, por assim dizer, como as condições necessárias para que se possam efectuar as anastomoses, existem outros que permitem a efectivação destes fenómenos — as condições suficientes.

A nosso ver, dentro do campo experimental, a composição do meio de cultura, em relação a determinados elementos, pode ser considerado o factor mais importante.

No confronto entre as estirpes de *Gyrophana lacrymans* encontrámos um caso em que a natureza do meio de cultura (gelose de cenoura) nos pareceu, em igualdade de outras condições, a causa indutora de anastomoses. Tudo nos leva o rejeitar, aqui, uma acção da parte do meio de cultura em proporcionar uma melhor «oportunidade» para a formação de anastomoses. Cremos antes que se trata de uma verdadeira modificação da biologia do fungo no sentido de estimular as fusões, facto que anteriormente, em outros meios de cultura, se não efectuava apesar de existirem todas as oportunidades, tanto no que dizia respeito a contactos de hifas como ao seu equilíbrio em vigor. A apoiar o nosso ponto de vista, conhece-se o efeito favorável do extracto de cenoura sobre a conjugação e esporulação das leveduras (Mckelvey, 1926).

Esta observação parece-nos extremamente importante e de grande alcance, levando-nos imediatamente a formular as seguintes perguntas: se o meio pode influir directamente na formação de anastomoses, não estaremos em presença de um agente actuando sobre a potencialidade responsável pelas fusões? Não poderá ainda esta influência do meio atingir o próprio mecanismo de isolamento fisiológico e fazê-lo operar em sentido inverso?

Investigações desta natureza, necessàriamente complexas, não constituem matéria do presente trabalho, mas um estudo

minucioso sobre os meios de cultura faz parte obrigatória de um futuro plano de trabalho de confrontação e certamente deve preparar o caminho para as referidas investigações.

Nos estudos sobre a influência do meio de cultura ter-se-ia de não só fazer ensaios comparativos em diferentes meios, como ainda identificar depois, nos mais eficientes, os factores responsáveis. Os meios gelosados feitos com produtos naturais, por exemplo, o de cenoura, cuja constância de composição não é possível garantir, deveriam ser substituídos por outros correspondentes, sintéticos, em que os factores de crescimento tanto orgânicos como minerais, seriam empregados quantitativamente e em estado puro, tal como se faz hoje com os microorganismos utilizados nas análises químicas por via biológica.

Que estes factores sejam de extrema importância na modificação da fisiologia dos fungos, já não oferece dúvida. Basta recordar a influência de « elementos mínimos », como o zinco, sobre a modificação espantosa do metabolismo do *Aspergillus niger* e *Rhizopus nigricans* quanto aos produtos da sua respiração (FOSTER, 1949).

Referente ainda a observações dos nossos ensaios e dentro do assunto de meios de cultura, registámos casos de fungos com maior facilidade para formarem anastomoses (por exemplo, a *Lenzites betulina* e a sua subespécie *flaccida*, as espécies de *Coriolus* ensaiadas, o *Xanthochrous Pini*), outros que as formam raramente (por exemplo, *Ganoderma applanatum*), e ainda os que se mostram rebeldes a este fenómeno (*Polyporus sulphureus* e *Ungulina ochroleuca*).

À primeira vista poderá atribuir-se essa maior ou menor facilidade para fusões intraespecíficas à própria natureza da espécie, tanto mais que as anastomoses *intramiceliais* se apresentavam numerosas nas espécies favoráveis às fusões e muito raras nas rebeldes. Inclinamo-nos, contudo, a não aceitar esta interpretação e a atribuir antes ao meio de cultura esta divergência de comportamento das espécies, apoiando-nos na sugestão de BULLER (1931) de que as anastomoses na natureza se formam sempre e abundantemente.

Segundo este autor, que se apoiou nas suas próprias observações sobre diversos Himenomicetas e nas de outros investigadores, estes fungos necessitam de formar, por anastomoses,

um denso tecido tridimensional com os seguintes fins: constituir uma rede eficiente para condução rápida de material alimentar para qualquer ponto da trama onde se formem frutificações ou esclerotos, defender a unidade do micélio das consequências de quebras de hifas, permitir a diploidização, ou ainda tornar possível, dentro da mesma espécie, a cooperação de micélios originados independentemente para a formação de uma ou mais frutificações. BULLER considera este último aspecto como um exemplo de «organização social» nos Himenomicetas, em vista da necessidade de um mínimo de massa micelial para a formação de um carpóforo; para o nosso caso, isto pode considerar-se, para todos os efeitos, como um confronto intraespecífico.

BULLER fez outra observação que consideramos altamente significativa — a de que o número de anastomoses crescia do centro para a periferia de uma colónia.

Perante este facto e as funções das anastomoses, que, segundo BULLER, devem ser extensivos a todos os Himenomicetas, é possível a interpretação de alguns fenómenos de observação corrente nos confrontos. Para dois daqueles — a maior frequência de fusões, especialmente as intramiceliais, nas culturas em vias de envelhecimento, e a melhor aptidão para as anastomoses quando em meio muito pobre — a razão de ser é bastante evidente. Com efeito, o facto de se verificar um aumento do número de anastomoses do centro para a periferia duma colónia equivale afirmar que este aumento se encontra correlacionado com a idade fisiológica das hifas, ou, então, com o esgotamento do meio alimentar.

Entretanto permanece por explicar e resolver o caso das espécies difíceis ou rebeldes às anastomoses, que não reagem satisfatòriamente a estes dois citados processos que favorecem as fusões.

Tomando por boa e lógica a generalização dos factos de BULLER, sòmente haverá que atribuir a deficiências de técnica, o comportamento negativo das referidas espécies. Interessaria, como já foi referido a propósito das espécies consideradas potencialmente compatíveis, investigar a influência das condições artificiais de cultura sobre a formação e a inibição das fusões, e teria particular interesse nesses estudos a determinação do

fenómeno de envelhecimento, como indutor de anastomoses. Seria também vantajoso verificar se a facilidade para as fusões é maior nos fungos recentemente isolados e se esta propriedade sofre com as subculturas continuadas em meios artificiais.

Nestes estudos, portanto, deve ser tomada em conta a possível influência do meio em que se multiplica o fungo anteriormente à efectivação do confronto. Não só este facto é para considerar, como também todos os outros, isto é, toda a história passada da cultura, o que lògicamente teria de abranger até os hospedeiros do parasita. O estudo da composição do hospedeiro mais favorável teria cabimento, e possìvelmente muito importante, na preparação de meios de cultura para melhorar a técnica. Não é sem significado que alguns fungos limitam o seu ataque a determinados hospedeiros.

Durante o presente trabalho sobre confrontações com micélios dicarióticos, pudemos verificar que, na realidade, muitos problemas fundamentais quer da apreciação dos fenómenos biológicos quer ainda os ligados à afinação da técnica, têm de ser encarados e resolvidos para se poder estabelecer o *modus faciendi* que sirva o nosso objectivo principal, isto é, a diagnose das poliporoses.

Bem sabemos que estes assuntos, como regra laboriosos e morosos, só poderão ser definidos e esclarecidos quando o número e a orientação dos ensaios efectuados sejam de ordem a poder fornecer indicações capazes. Não se deve, portanto, estranhar a imperfeição da técnica empregada e a falta de alguns esclarecimentos que parecem fundamentais uma vez que um só autor, anteriormente a nós, empreendeu alguns estudos nesse sentido.

A presente discussão teve por fim pôr em evidência os vários factos a considerar, alguns aparentemente inoportunos, mas aos quais se deve atender quando se pensa em aperfeiçoar uma técnica, pois a ciência avança à medida que se vão criando novos métodos, melhores técnicas e mais perfeitos meios de observação.

SUMÁRIO E CONCLUSÕES

O presente estudo teve por objectivo apreciar o valor do método dos confrontos de micélios dicarióticos no diagnóstico das poliporoses.

A revisão bibliográfica dos estudos sobre anastomoses miceliais aplicados à sistemática dos Himenomicetas revelou que apenas um único autor tinha anteriormente trabalhado com diplontes.

Na orientação seguida, visto ser o primeiro trabalho desta natureza com as Poliporáceas de Portugal, procurou-se estudar, para as diferentes espécies, o seu comportamento em confrontos intraespecíficos e, simultâneamente, confirmar o fundamento do método — o postulado da incompatibilidade interespecífica. Para isso utilizaram-se 21 espécies, compreendendo 41 culturas das quais 23 portuguesas (Quadro I).

Depois de ensaiar várias técnicas (DAVIDSON, DOWDING & BULLER; VAN UDEN; LINHELL; e ROBAK) adoptou-se a de ROBAK que teve, no entanto, de ser modificada em determinados casos.

Todos os confrontos, mantidos à temperatura ambiente, foram efectuados em séries de três, que se repetiram até seis vezes em certos casos rebeldes, difíceis ou duvidosos. Para cada confrontação empregaram-se sempre dois meios de cultura, a gelose de Sabouraud e a gelose simples; quando estes meios não se mostraram satisfatórios, utilizaram-se ainda as geloses de Dox, batata simples e cenoura em combinação com modificações especiais da técnica consoante os casos. Desta forma, o total de confrontações realizadas foi de cêrca de 800.

Do presente trabalho pudemos tirar as seguintes conclusões.

1. Pelo método das confrontações entre diplontes, a compatibilidade foi verificada apenas entre estirpes da mesma espécie, qualquer que fosse a sua origem (país ou hospedeiro); entre estirpes de espécies distintas observou-se sempre a incompatibilidade. É necessário, no entanto, prudência quanto à apreciação dos resultados negativos, pois registaram-se casos de falta de anastomoses entre estirpes pertencentes à mesma espécie [*Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr. e *Ungulina ochroleuca* (Berk.) Pat.].

2. A análise crítica ao «híbrido» de ROUTIEN [*Naucoria semiorbicularis* (Fr.) Quél. × *Annelaria separata* (Fr.) Karst.] mostra que este não oferece garantia suficiente para que se possa considerar comprometido o postulado de VANDENDRIES. Não se reconhece, portanto, até à data, como cabalmente demonstrada, a existência de qualquer híbrido obtido experimentalmente nos Himenomicetas.

3. Chama-se a atenção para o facto do primeiro «híbrido» (*Panaeolus campanulatus* Fr. ex L. × *P. fimicola* Fr.) anunciado por VANDENDRIES para os Himenomicetas, ser ainda citado correntemente na literatura micológica, quando o próprio autor o negara já em 1933.

4. O método de confronto entre diplontes pode constituir um valioso auxiliar na identificação de espécies, em especial nas fàcilmente confundíveis [*Leptoporus adustus* (Willd.) Quél., e *L. imberbis* (Bull.) Quél.].

A *Lenzites betulina* (L.) Fr. e a sua subespécie *flaccida* (Bull.) B. et G., por vezes tidas como espécies distintas, mostraram-se perfeitamente compatíveis, devendo, portanto, ser consideradas como pertencentes à mesma espécie.

5. Recomenda-se o máximo cuidado na observação de uma fusão, em virtude da frequência de anastomoses aparentes; a sua apreciação requere experiência e um exame continuado. Em alguns ensaios, contudo, não se poude determinar com segurança a autenticidade das fusões, como aconteceu nas confrontações da *Lenzites quercina* (L.) Quél. (936 × 929), *Xanthochrous hispidus* (Bull.) Pat. (623 × 797) e *Ganoderma lucidum* (Leys.) Karst. (879 e 969) × *G. resinaceum* Boud. (640 e 968).

6. É variável, consoante as espécies, a capacidade para as anastomoses intraespecíficas. As espécies ensaiadas que mostraram ter maior facilidade para as fusões foram a *Lenzites betulina* (L.) Fr. e a sua subespécie *flaccida* (Bull.) B. et G., as três espécies de *Coriolus*, o *Leptoporus adustus* (Willd.) Quél. e o *Xanthochrous Pini* (Th.) Pat.; revelaram menor facilidade, as três espécies de *Ganoderma*, as duas de *Phellinus* e o *Gyrophana lacrymans* (Wulf.) Pat. As espécies *Polyporus sulphu-*

reus (Bull.) Fr. e *Ungulina ochroleuca* (Berk.) Pat. revelaram-se rebeldes.

Esta diferença de comportamento é atribuível às condições artificiais em que se efectuam os confrontos.

7. Melhorou-se a técnica de confronto de forma a conseguir que algumas espécies difíceis de confrontar passassem a dar fusões; noutras conseguiu-se reduzir notàvelmente o período da sua efectivação.

As modificações mais importantes foram o ajustamento da distância entre os confrontantes conforme o seu vigor, e uma antecedência na colocação do inóculo de crescimento mais lento. Há o máximo interesse em explorar estes factores em conjunto com um meio de cultura apropriado, pois que a natureza da sua composição pode ser uma determinante de anastomoses (o caso da *Gyrophana lacrymans* em gelose de cenoura).

8. Reafirma-se a vantagem, para a maior parte das espécies ensaiadas, do emprego de meios pobres (agar simples), pela melhor observação que proporcionam e pelo seu efeito estimulante em relação às anastomoses.

9. A fim de tornar expedito o método de confronto, isto é, aplicável à prática corrente da diagnose de poliporoses, deve-se estudar, para cada espécie, a aplicação dos factores mencionados.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The present work was undertaken to judge the value of identifying wood-rotting Polyporaceae by the pairing of diploid mycelia.

The review of the literature on mycelial anastomoses applied to the systematics of the Hymenomycetes showed that only one author had worked on diplonts. Since this study was the first to be carried out on Portuguese Polyporaceae it was important to obtain data on the behaviour of different species when paired intraspecifically; it was also held in mind to test the principle of the method itself — interspecific incompatibility.

In view of these circumstances 21 species were employed

covering 41 strains of which 23 were Portuguese isolates (Table I).

Various techniques were tried (Davidson, Dowding & Buller; van Uden; Linhell; and Robak). That of Robak was adopted with some modifications.

Series of three replicates, maintained at room temperature, were made for each pairing and were repeated up to six times when certain incompatible, difficult or dubious cases were encountered. In every pairing two media were employed, Sabouraud and plain agar; when not satisfactory, Dox, potato and carrot agar were also used with further modifications of technique according to the behaviour of the species. On the whole about 800 pairings were carried out.

The following conclusions were drawn.

1. In pairings of diplonts compatibility was observed exclusively with strains of the same species whatever their origin (country or host); between distinct species incompatibility was always observed. Negative results should however be treated with caution, as cases of lack of anastomoses are observed within a same species [*Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr. and *Ungulina ochroleuca* (Berk.) Pat.].

2. A critical examination of the claim by Routien of having obtained a hybrid [*Naucoria semiorbicularis* (Fr.) Quél. × *Annelaria separata* (Fr.) Karst.] throws sufficient doubt on its authenticity to consider still unchallenged the postulate of Vandendries. Therefore no clearly demonstrated hybrid is yet known to have been obtained within the Hymenomycetes.

3. Attention is called to the fact that the first «hybrid» (*Panaeolus campanulatus* Fr. ex L. × *P. fimicola* Fr.) announced for the Hymenomycetes by Vandendries (1923 a) is still currently cited in mycological literature though the author revoked it in 1933.

4. The pairing of diplonts can be considered of value in the identification of species, specially of those easily confused [*Leptoporus adustus* (Willd.) Quél., and *L. imberbis* (Bull.) Quél.].

Lenzites betulina (L.) Fr. and *L. betulina* ssp. *flaccida*

(Bull.) B. et G., sometimes considered as distinct species, are shown to be perfectly compatible and ought therefore to be considered as belonging to the same species.

5. Great care is recommended in observing anastomoses as apparent fusions are encountered frequently; experience and continued observations are required to distinguish them. In some pairings however, certainty as to the authenticity of the fusions could not be obtained. Such were the cases of *Lenzites quercina* (L.) Quél. (936 × 929), *Xanthochrous hispidus* (Bull.) Pat. (623 × 797) and *Ganoderma lucidum* (Leys.) Karst. (879 and 969) × *G. resinaceum* Boud. (640 and 968).

6. The capacity for intraspecific anastomoses varies with the species. Showing a greater ease for fusing were *Lenzites betulina* (L.) Fr. and its subspecies *flaccida* (Bull.) B. et G., the three species of *Coriolus*, *Leptoporus adustus* (Willd.) Quél. and *Xanthochrous Pini* (Th.) Pat.; a lesser capacity was observed with the three species of *Ganoderma*, the two of *Phellinus* and *Gyrophana lacrymans* (Wulf.) Pat. With the strains of *Polyporus sulphureus* (Bull.) Fr. and *Ungulina ochroleuca* (Berk.) Pat. no intraspecific fusions could be obtained. It is suggested that these differences in behaviour may be due to the artificial conditions in the pairing technique.

7. The method of pairing mycelia was improved so that in the case of some difficult species to work with, fusions were obtained; also the time was considerably reduced. Principal modifications were: adjustment of the distance between mycelia according to vigor, and an earlier start given to the slower growing mycelium. Emphasis is laid on the importance of combining these factors with an appropriate culture medium as the nature of its composition may well be an inducer of fusions (viz. *Gyrophana lacrymans* on carrot agar).

8. The advantages of plain agar are reaffirmed. For the greater part of the species tested it improved observation and stimulated the formation of anastomoses.

9. In order to render practical the method, *i. e.*, applicable to routine diagnosis, each species should be studied separately in relation to the above factors.

AGRADECIMENTOS

Desejamos agradecer ao Prof. Dr. FLÁVIO REZENDE a gentileza de ter permitido que este estudo fosse realizado no Laboratório de Micologia, do Instituto Botânico, durante um período em que nos seria impossível efectuá-lo no nosso Laboratório de Patologia Vegetal « Veríssimo de Almeida ».

Ao Dr. J. PINTO-LOPES expressamos o nosso muito reconhecimento por todo o auxílio e indicações prestadas, bem como pelo interesse com que nos acompanhou.

À nossa preparadora D. ELDA BEXIGA, os melhores agradecimentos pela sua dedicação e valiosa ajuda.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARNETT, H. L.
1937 Studies in the sexuality of the Heterobasidiae. *Mycologia* **29** (5): 626-649.

BIGGS, R.
1937 The species concept in *Corticium coronilla*. *Mycologia* **29** (6): 686--706.

BOSE, S. R.
1934 White variety of *Polystictus sanguineus* (L.) Mey.. *Ceylon J. Sci.* (A) **12** (1): 55-56. (Cit. QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).

BOURDOT, H., et A. GALZIN
1928 *Hyménomicètes de France*. Paris. (Cit. PINTO-LOPES, 1950 e 1952).

BRODIE, H. J.
1936 The barrage phenomenon in *Lenzites betulina*. *Genetica* **18** (1, 2): 61-73. (Cit. QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).

BROOKS, F. T.
1928 *Plant Diseases*. Oxford University Press.

BRUNSWIK, H.
1924 Untersuchungen über die Geschlechts- und Kernverhältnisse bei der Hymenomyzetengattung *Coprinus*. *Bot. Abhandl.* **5**: 1-152. (Cit. BULLER, 1933; QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).

BULLER, A. H. R.
1924 *Researches on Fungi*. III. Longmans, Green and Co., London.
1930 The biological significance of conjugate nuclei in *Coprinus lagopus* and other Hymenomycetes. *Nature* **126**: 686-689.
1931 *Researches on Fungi*. IV. Longmans, Green and Co., London.
1933 *Researches on Fungi*. V. Longmans, Green and Co., London.
1941 The diploid cell the and diploidisation process in plants and animals, with special reference to the higher fungi. *Bot. Rev.* **7** (7, 8): 335-431.

BULLER, A. H. R., and D. E. NEWTON
1927 The mating method of identification of a Coprinus growing on germinating seeds of mangel and sugar-beet. *Ann. Bot.* **41** (144): 663-670.

CARTWRIGHT, K. ST. G.
1931 Further notes on Basidiomycetes in culture. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* **16**: 304-307. (Cit. CARTWRIGHT and FINDLAY, 1946).

CARTWRIGHT, K. ST. G., and W. P. K. FINDLAY
1946 *Decay of timber and its prevention.* H. M. S. O. London.

CHOW, C. H.
1934 Contribution à l'étude du développement des Coprins. Thèses. Paris.

DAVIDSON, A. M., E. S. DOWDING and A. H. R. BULLER
1932 Hyphal fusions in Dermatophytes. *Canad. J. Res.* **6**: 1-20.

DONK, M. A.
1931 Revisie van de Nederlandse Heterobasidiomycetae en Homobasidiomycetae — Aphyllophorales. Deel I. *Mededeel. v. h. Nederlandsche Mycologische Vereenigung* 18, 19, 20: 67-200. (Cit. ROBAK, 1942).

FOSTER, J. W.
1949 *Chemical activities of fungi.* Academic Press Inc., Publishers, New York.

FRIES, E.
1838 *Epicrisis Systematis Mycologici, seu Synopsis Hymenomycetum.* Upsaliae. (Cit. PILÁT, 1936).

FRIES, N.
1936 Über die Sexualität einiger Polyporaceen. *Svensk. bot. Tidskr.* **30** (3): 355-361.
1948 Heterothallism in some Gasteromycetes and Hymenomycetes. *Svensk. bot. Tidskr.* **42** (2): 158-168.

HANNA, W. F.
1925 The problem of sex in *Coprinus lagopus*. *Ann. Bot.* **39** (154): 431-457.

HEIM, R.
1947 Sur les caractères des Polypores en culture artificielle. *Compt. R. Acad. Sci. Paris* **225**: 421-423.

JORSTAD, I.
1937 Aphyllophoraceus Hymenomycetes from Trondelag. *Det. Kgl. Norske Vidensk. Selsk. Skr.* 1936, N.º 10, 48 p. (Cit. ROBAK, 1942).

KEMPER, W.
1937 Zur Morphologie und Zytologie der Gattung *Coniophora*, insbesondere des sogenannten Kellerschwammes. *Zentralbl. f. Bakt. Paras. und Infekt.* **97**: 100-124. (Cit. ROBAK, 1942).

KNIEP, H.
1922 Über erbliche Aenderungen von Geschlechtsfaktoren bei Pilzen. *Zeitschr. ind. Abst. und Vererbgsl.* **31**: 170-183. (Cit. QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).
1928 *Die Sexualität der niederen Pflanzen.* Jena.

KÜHNER, R.

1945 Remarques d'ordre technique sur l'étude de la répartition des noyaux dans les mycéliums de Basidiomycètes. *Bull. Soc. Lin. Lyon* (8 et 9): 177-181.

KÜHNER, R., et M. JOSSERAND

1944 Étude de quatre Coprins du groupe « lagopus ». *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **60**: 19-37.

KÜHNER, R., H. ROMAGNESI et H. C. YEN

1947 Différences morphologiques entre plusieurs souches de Coprins de la section *micacei* et confrontation de leurs haplontes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **63** (3-4): 169-186.

LINHELL, D.

1939 Untersuchungen über die Mykorrhizen und die Wurzelpilze von *Juniperus communis. Symb. Bot. Upsaliensis* **3** (3): 1-141.

MACRAE, R.

1937 Interfertility phenomena of the American and European forms of *Panus stypticus* (Bull.) Fries. *Nature* **139** (3520): 674.

1941 Genetical and sexuality studies in some higher Basidiomycetes. Univ. of Toronto thesis. (Cit. NOBLES, 1943).

1942 Interfertility studies and inheritance of luminosity in *Panus stypticus. Canad. J. Res.* **20** (8): 411-434.

MAUBLANC, M. A.

1948 Rapport sur la session générale tenue à Lyon du 21 au 28 Septembre 1948. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **64** (3-4): XXIV-XXXIV.

MCKELVEY, C. E.

1926 Notes on yeasts in Carbonated Beverages. *J. Bact.* **11**: p. 98.

MOUNCE, I.

1926 A preliminary note on *Fomes pinicola* Fr. and *Pholiota adiposa* Fr. — two heterothallic species of wood-destroying fungi. *Phytopathology* **16**: 757-758.

1929 Studies in Forest Pathology. II. The Biology of *Fomes pinicola* (Sw.) Cooke. *Bull. Dep. Agric. Canad.* **111**: 1-76.

1930 Notes on sexuality in *Fomes pinicola* (Sw.) Cooke, *Fomes roseus* (Fr.) Cooke, *Polyporus Tuckahoe* (Güssow) Sacc. et Trott., *P. resinosus* (Schrad.) Fr., *P. anceps* Peck, *Lenzites saepiaria* Fr., *Trametes protracta* Fr., and *T. suaveolens* (L.) Fr.. *Can. Phytopath. Soc. Proc.* **1929**.

MOUNCE, I. and R. MACRAE

1936 The behaviour of paired monosporus mycelia of *Lenzites saepiaria* (Wulf.) Fr., *L. trabea* (Pers.) Fr., *L. thermophila* Falck and *Trametes americana* Overh.. *Canad. J. Res.* **14**: 215-221.

1937 The behaviour of paired monosporus mycelia of *Fomes roseus* (Alb. et Scw.) Cooke and *Fomes subroseus* (Weir.) Overh. *Canad. J. Res.* **15**: 154-161.

1938 Interfertility phenomena in *Fomes pinicola. Canad. J. Res.* **16**: 354--376.

NEWTON, D. E.
1926 The bisexuality of individual strains of *Coprinus Rostrupianus*. *Ann. Bot.* **40** (157): 105-128.
NOBLES, M. K.
1943 A contribution toward a clarification of the *Trametes serialis* complex. *Canad. J. Res.* **21**: 211-234.
1948 Studies in Forest Pathology VI. Identification of cultures of wood--rotting fungi. *Canad. J. Res.* **26**: 281-431.
OVERHOLTS, L. O.
1939 Geographical distribution of some American Polyporaceae. *Mycologia* **31**: 629-652.
PATOUILLARD, N.
1900 *Essai taxonomique sur les familles et les genres des Hyménomycètes.* Lons-Le-Saunier.
PILÁT, A.
1931 Monographie der europäischen Stereaceen. *Hedwigia* **70**: 10-132. (Cit. ROBAK, 1942).
1936 *Atlas des champignons de l'Europe*. Praha.
1940 Polyporaceae. In Atlas des Champignons de l'Europe. Ser. B., Vol 3, Prague 1939. (Cit. ROBAK, 1942).
PINTO-LOPES, J.
1950 Poliporoses e fungos da decomposição da madeira em Portugal *Rev. Fac. Sciências Lisboa*, 2.ª Série C. N., **1**: 53-108.
1952 Em preparação.
QUINTANILHA, A.
1937 Contribution à l'étude génètique du Phénomène de Buller. *C. R. Acad. Sci. Paris* **205**: 745-747.
1941 Doze anos de citologia e genética dos fungos. *Agron. Lusitana* **3** (4): 241-301.
1944 La conduite sexuelle de quelques espèces d'Agaricacées. *Bol. Soc Broteriana* **19** (2.ª Série): 27-65.
QUINTANILHA, A. et J. PINTO-LOPES
1950 Aperçu sur l'état actuel de nos connaissances concernant la « conduite sexuelle » des espèces d'Hymenomycètes. I. *Bol. Soc. Brot* **24** (2.ª Série): 115-290.
RAESTAD, R.
1940 The relation between *Polyporus abietinus* (Dicks. ex Fr.) Fr. and *Irpex fusco-violaceus* (Ehrenb. ex Fr.) Fr.. *Nyt. Mag. Naturv.* **81**: 207-231. (Cit. ROBAK, 1942).
REINHARDT, M. O.
1892 Das Wachstum der Pilzhyphen. Ein Beitrag zur Kenntnis des Flächenwachstums vegetabilischer Zellmembranen. *Jahrb. f. Wissensch. Bot.* **23**: 479-566. (Cit. BULLER, 1933; ROBAK, 1942).
ROBAK, H.
1942 Cultural Studies in some Norvegian wood-destroying fungi. A biological study and a contribution to diagnostic of wood decay. *Medd. Vestland. Forstl. Forsöksst.* **25**, 248 p.

ROUTIEN, J. B.

1940 Cultural and Genetical studies of certain Agarics. *Mycologia* **32**: 97-104.

UDEN, N. VAN

1951 Eine einfache Methode zum Studium der Pilzmorphologie im allgemeinem und der vegetativen Anastomosen im besonderen. *Archiv für Dermat. u. Syph.* **193**: 468.

VANDENDRIES, R.

1923a Recherches sur le determinisme sexuel des Basidiomycètes. *Mém. Acad. R. Belg. Cl. Sci.* **5** (1): 1-98 (Collection in 4.º).

1923b Nouvelles recherches sur la sexualité des Basidiomycètes. *Bull. Soc. R. Bot. Belg.* **56** (1): 73-97, 1924.

1924 Contribution nouvelle à l'étude de la sexualité des Basidiomycètes. *La Cellule* **35**: 129-155, 1925.

1925a L'hétéro-homothallisme dans le genre Cuprinus. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* **57**: 139-146.

1925b La tétrapolarité sexuelle des Coprins. *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* **58**: 180-186.

1926 L'hétérothalisme et le critérium de spécificité basé sur la fertilité des races étrangères chez *Coprinus micaceus*. *C. R. Congrès de Lyon de l'Assoc. Franc. l'Avanc. Sci.* (Cit. QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).

1927a Les mutations sexuelles, l'hétérohomothalisme et la stérilité entre races géographiques de «Coprinus micaceus». *Mém. Acad. R. Belg. Cl. Sci.* **9** (3): 3-50 (Collection in 8.º).

1927b Nouvelles recherches expérimentales sur le comportement sexuel de *Coprinus micaceus*. I. *Mém. Acad. R. Belg. Cl. Sci.* **9** (1): 1-128, 1928. (Collection in 4.º).

1929 Les relations entre souches étrangères expliquées par les aptitudes sexuelles des individus parthénogénétiques chez *Coprinus micaceus*. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **45**: 216-248.

1933 Nouvelles investigations dans le domaine sexuel des Hyménomycètes. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **49** (1): 130-165.

1934 Les affinités sexuelles de *Hypholoma sublateritium* Fr.. *Bull. Soc. Mycol. Fr.* **50** (2): 213-317.

1936 Les tendances sexuelles chez les Polyporées. III. *Leucoporus brumalis* (Fr. ex Pers.) Quél.. *Revue de Mycologie* **1**: 294-302. (Cit. QUINTANILHA & PINTO-LOPES, 1950).

1937 Les modalités sexuelles des Basidiomycètes. *Bull. Soc. Roy. Belg.* **70**: 66-85.

VANDENDRIES, R. et G. ROBYN

1929 Nouvelles recherches expérimentales sur le comportement sexuel de *Coprinus micaceus*. II. *Mém. Acad. R. Belg. Cl. Sci.* **9** (7): 1-117. (Collection in 4.º).

YEN, H. CHU

1947 Note préliminaire sur la polarité sexuelle et sur les caractères du mycélium haploïde de plusieurs Homobasidiomycètes. *C. R. Acad. Sci. Paris* **224**: 1239-1240.

YEN, H. CHU
1948 Deuxième note préliminaire sur la sexualité et sur les caractères du mycélium de quelques Homobasidiomycètes. *C. R. Acad. Sci. Paris.* **226** (15): 1214-1215.

WINGE, O.
1942 Croisement inter-specifique chez les champignons. *Scientia Genetica* **2** (2-3).

ERRATA

PÁG.	LINHA	ONDE SE LÊ	LEIA-SE
292	31	esporos	esporóforos
331	16	de *Ph.*	as estirpes de *Ph.*
334	5	797	795
334	12	entre duas	entre as duas
338	15	estudos	estados

No Quadro X os sinais (—) devem ter uma disposição análoga aos do Quadro IX

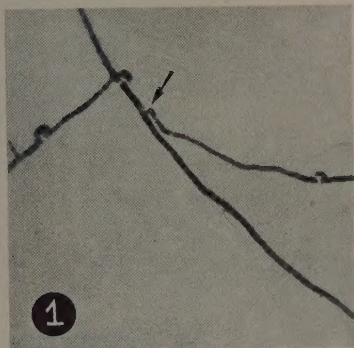
EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA

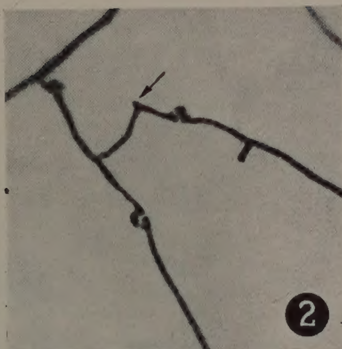
ESTAMPA I

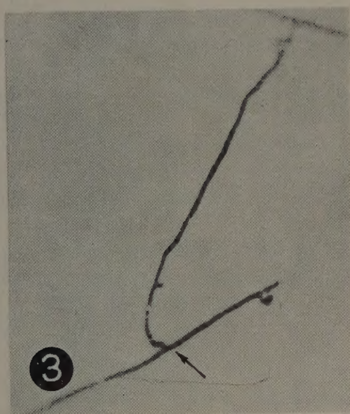
Aspectos de anastomoses miceliais.

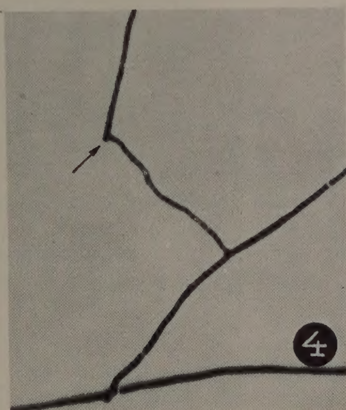
Preparações coradas com azul de anilina. As setas indicam o ponto de fusão dos micélios confrontantes.

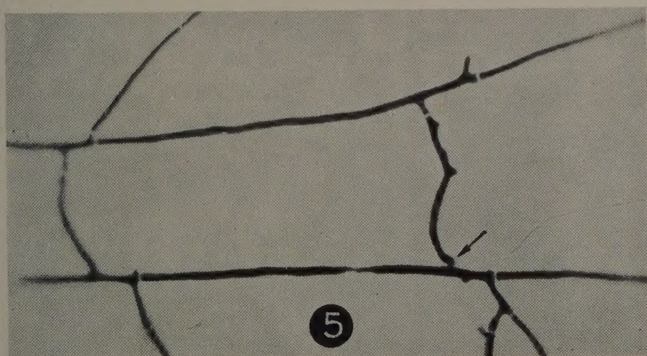
Figs. 1 e 2 — *Lenzites betulina* (782 × 842).
Fig. 3 — *Leziles betulina* (842) × *L. betulina* ssp. *flaccida* (999).
Figs. 4 e 5 — *Xanthochrous Pini* (950 × 951).


1


2


3


4


5

ÍNDICE